

TENT COOPERATION TREA

PCT

NOTIFICATION OF THE RECORDING
OF A CHANGE(PCT Rule 92bis.1 and
Administrative Instructions, Section 422)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

ACKERMANN, Joachim
Postfach 11 13 26
60048 Frankfurt am Main
ALLEMAGNE

Date of mailing (day/month/year) 23 July 2001 (23.07.01)	IMPORTANT NOTIFICATION
Applicant's or agent's file reference 1999/FO32 PCT	
International application No. PCT/EP00/03949	International filing date (day/month/year) 03 May 2000 (03.05.00)

1. The following indications appeared on record concerning:		
<input checked="" type="checkbox"/> the applicant	<input checked="" type="checkbox"/> the inventor	<input type="checkbox"/> the agent
<input type="checkbox"/> the common representative		
Name and Address BAUER, Bettina Kleine Feldstrasse 9 D-65795 Hattersheim Germany	State of Nationality DE	State of Residence DE
	Telephone No.	
	Facsimile No.	
	Teleprinter No.	
2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:		
<input type="checkbox"/> the person	<input type="checkbox"/> the name	<input checked="" type="checkbox"/> the address
<input type="checkbox"/> the nationality		
<input type="checkbox"/> the residence		
Name and Address BAUER, Bettina Johannesallee 15 65929 Frankfurt Germany	State of Nationality DE	State of Residence DE
	Telephone No.	
	Facsimile No.	
	Teleprinter No.	
3. Further observations, if necessary:		
4. A copy of this notification has been sent to:		
<input checked="" type="checkbox"/> the receiving Office	<input type="checkbox"/> the designated Offices concerned	
<input type="checkbox"/> the International Searching Authority	<input checked="" type="checkbox"/> the elected Offices concerned	
<input checked="" type="checkbox"/> the International Preliminary Examining Authority	<input type="checkbox"/> other:	

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer N. Wagner
Facsimile No.: (41-22) 740.14.35	Telephone No.: (41-22) 338.83.38

P ENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTIFICATION OF THE RECORDING
OF A CHANGE(PCT Rule 92bis.1 and
Administrative Instructions, Section 422)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

ACKERMANN, Joachim
Postfach 11 13 26
60048 Frankfurt am Main
ALLEMAGNE

Date of mailing (day/month/year) 25 June 2001 (25.06.01)	IMPORTANT NOTIFICATION
Applicant's or agent's file reference 1999/FO32 PCT	
International application No. PCT/EP00/03949	International filing date (day/month/year) 03 May 2000 (03.05.00)

1. The following indications appeared on record concerning:		
<input type="checkbox"/> the applicant	<input type="checkbox"/> the inventor	<input checked="" type="checkbox"/> the agent
<input type="checkbox"/> the common representative		
Name and Address	State of Nationality	State of Residence
	Telephone No.	
	Facsimile No.	
	Teleprinter No.	
2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:		
<input checked="" type="checkbox"/> the person	<input checked="" type="checkbox"/> the name	<input checked="" type="checkbox"/> the address
<input type="checkbox"/> the nationality		
<input type="checkbox"/> the residence		
Name and Address ACKERMANN, Joachim Postfach 11 13 26 60048 Frankfurt am Main Germany	State of Nationality	State of Residence
	Telephone No. 0049-69-92033-801	
	Facsimile No. 0049-69-92033-7	
	Teleprinter No.	
3. Further observations, if necessary: Please note the above-mentioned appointment of the new agent of records.		
4. A copy of this notification has been sent to:		
<input checked="" type="checkbox"/> the receiving Office	<input type="checkbox"/> the designated Offices concerned	
<input type="checkbox"/> the International Searching Authority	<input checked="" type="checkbox"/> the elected Offices concerned	
<input checked="" type="checkbox"/> the International Preliminary Examining Authority	<input type="checkbox"/> other:	
The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer N. Wagner	
Facsimile No.: (41-22) 740.14.35	Telephone No.: (41-22) 338.83.38	

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTIFICATION OF THE RECORDING
OF A CHANGE(PCT Rule 92bis.1 and
Administrative Instructions, Section 422)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

AVENTIS RESEARCH & TECHNOLOGIES
GMBH & CO KG
Patent- und Lizenzabteilung
Industriepark Höchst, Gebäude D 706
D-65926 Frankfurt am Main
ALLEMAGNE

Date of mailing (day/month/year) 13 juin 2001 (13.06.01)	IMPORTANT NOTIFICATION
Applicant's or agent's file reference 1999/FO32 PCT	
International application No. PCT/EP00/03949	International filing date (day/month/year) 03 mai 2000 (03.05.00)

1. The following indications appeared on record concerning:		
<input checked="" type="checkbox"/> the applicant	<input checked="" type="checkbox"/> the inventor	<input type="checkbox"/> the agent <input type="checkbox"/> the common representative
Name and Address WILL, Cindy Georg-Voigt-Strasse 69 D-35039 Marburg Germany	State of Nationality US	State of Residence DE
	Telephone No.	
	Facsimile No.	
	Teleprinter No.	
2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:		
<input type="checkbox"/> the person	<input type="checkbox"/> the name	<input checked="" type="checkbox"/> the address <input type="checkbox"/> the nationality <input type="checkbox"/> the residence
Name and Address WILL, Cindy Nikolausberger Weg 72 37073 Göttingen Germany	State of Nationality US	State of Residence DE
	Telephone No.	
	Facsimile No.	
	Teleprinter No.	
3. Further observations, if necessary:		
4. A copy of this notification has been sent to:		
<input checked="" type="checkbox"/> the receiving Office	<input type="checkbox"/> the designated Offices concerned	
<input type="checkbox"/> the International Searching Authority	<input checked="" type="checkbox"/> the elected Offices concerned	
<input checked="" type="checkbox"/> the International Preliminary Examining Authority	<input type="checkbox"/> other:	

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No.: (41-22) 740.14.35	Authorized officer N. Wagner Telephone No.: (41-22) 338.83.38
---	---

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTIFICATION OF ELECTION (PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

Commissioner
US Department of Commerce
United States Patent and Trademark
Office, PCT
2011 South Clark Place Room
CP2/5C24
Arlington, VA 22202
ETATS-UNIS D'AMERIQUE
in its capacity as elected Office

Date of mailing: 14 December 2000 (14.12.00)	
International application No.: PCT/EP00/03949	Applicant's or agent's file reference: 1999/FO32 PCT
International filing date: 03 May 2000 (03.05.00)	Priority date: 04 June 1999 (04.06.99)
Applicant: BAUER, Bettina et al	

1. The designated Office is hereby notified of its election made:

☒ in the demand filed with the International preliminary Examining Authority on:
17 October 2000 (17.10.00)

☐ in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:

2. The election ☒ was
☐ was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No.: (41-22) 740.14.35	Authorized officer: J. Zahra Telephone No.: (41-22) 338.83.38
---	---

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
14. Dezember 2000 (14.12.2000)

PCT

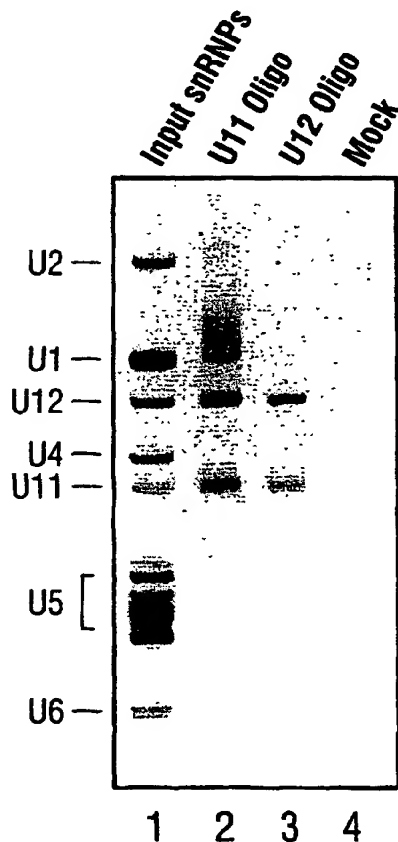
(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 00/75309 A1

- (51) Internationale Patentklassifikation⁷: C12N 15/12, 5/10, 1/21, C07K 14/47, G01N 33/50
- (21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP00/03949
- (22) Internationales Anmeldedatum: 3. Mai 2000 (03.05.2000)
- (25) Einreichungssprache: Deutsch
- (26) Veröffentlichungssprache: Deutsch
- (30) Angaben zur Priorität: 199 25 668.3 4. Juni 1999 (04.06.1999) DE
- (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): AVENTIS RESEARCH & TECHNOLOGIES
- (72) Erfinder; und
- (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): BAUER, Bettina [DE/DE]; Kleine Feldstrasse 9, D-65795 Hattersheim (DE). LÜHRMANN, Reinhard [DE/DE]; Ewiges Tal 16b, D-35041 Marburg (DE). WILL, Cindy [US/DE]; Georg-Voigt-Strasse 69, D-35039 Marburg (DE).
- (81) Bestimmungsstaaten (national): AU, CA, IL, JP, NO, NZ, PL, RO, SG, US.
- (84) Bestimmungsstaaten (regional): europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: SPLICEOSOME PROTEIN AND ITS USE

(54) Bezeichnung: SPLEISSOSOMPROTEIN UND SEINE VERWENDUNG



(57) Abstract: The invention relates to a spliceosome protein that is associated with the U11/U12 snRNP complex of the U12-dependent spliceosome and that is specific of said spliceosome. Said protein and the DNA sequence encoding it are useful for the diagnostics of certain autoimmune diseases and of diseases that are caused by defects in the splicing apparatus.

(57) Zusammenfassung: Gegenstand der Erfindung ist ein Spleissosomprotein, das mit dem U11/U12 snRNP-Komplex des U12-abhängigen Spleissosoms assoziiert ist und für dieses Spleissosom spezifisch ist. Dieses Protein und die hierfür codierende DNA-Sequenz können bei der Diagnostik bestimmter Autoimmunkrankheiten und von Krankheiten verwendet werden, die auf Defekten im Spleissapparat beruhen.

WO 00/75309 A1



Veröffentlicht:

— Mit internationalem Recherchenbericht.

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes, und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

Spleißosomprotein und seine Verwendung

Beschreibung

5 Die vorliegende Erfindung betrifft ein Spleißosomprotein, das mit dem U11/U12 snRNP-Komplex des AT-AC-Spleißosoms assoziiert ist und für dieses Spleißosom spezifisch ist. Die Erfindung betrifft ferner die Verwendung dieses Proteins und der hierfür codierende DNA-Sequenzen bei der Diagnostik von Autoimmunkrankheiten und von Krankheiten, die auf Defekten des Spleißapparats beruhen.

10

15

20

25

30

Bei Patienten, die an der Grave's Krankheit leiden, ist gezeigt worden, daß durch fehlerhaftes Spleißen ein entscheidendes Enzym (Thyroperoxidase) in einer inaktiven Form entsteht (Zanelli, E. (1990) Biochem. Biophys. Res. Comm., 170, 725). Untersuchungen für die Krankheit Spinale Muskelatrophie weisen darauf hin, daß ein defektes Genprodukt des Gens SMN (Survival of motor neurons) zu einer erheblichen Störung der Bildung der snRNPs führt. Durch die Inhibierung des Spleißapparates der Muskelneuronen, kommt es zu einer Paralyse der Nervenzellen und zu einem Abbau des Muskelgewebes (Fischer, U. et al., (1997), Cell, 90: 1023-9; Liu, Q. et al. (1997), Cell, 90: 1013-21; Lefebvre, S. et al, (1997) Nat. Genet., 16, 265). Bei der Metastasierung von Krebszellen scheinen unter anderem bestimmte alternative Spleißvarianten von dem membranständigen Molekül CD44 eine entscheidende Rolle zu spielen. Das CD44-Gen enthält mehrere Exons, von denen 10 nebeneinanderliegende Exons in unterschiedlicher Anordnung bei der mRNA-Generierung aus der prä-mRNA gespleißt werden. Bei Ratten Karzinomazellen wurde nachgewiesen, daß metastasierende Varianten die Exons 4 bis 7 oder 6 bis 7 tragen. Mit Hilfe von Antikörpern gegen den von Exon 6 kodierten Teil des Proteins konnte die Metastasierung wirksam unterdrückt werden (Sherman, L., et al., (1996) Curr. Top. Microbiol. Immunol. 213: 249-269).

Fehlerhaftes Spleißen kann zu stark ausgeprägten Phänotypen des betroffenen Organismus führen. So ist bekannt, daß eine Punktmutation in einem Intron des β -Globin zu einer β^+ -Thalassaemie führen kann. Durch die Punktmutation entsteht ein falscher Spleißort, der zu einem veränderten Leseraster und zu einer vorzeitigen

Termination der Peptidkette führt (Weatherall, D.J. & Clegg, J.B. (1982) Cell, 29, 7; Fukumaki, Y. et al. (1982) Cell, 28, 585). Bei *Arabidopsis thaliana* Mutanten führt z. B. eine Punktmutation an der 5' Spleißstelle des Phytochrom B Gens zu einer fehlerhaften Expression des Gens. Durch diese Veränderung kann ein Intron nicht entfernt werden, welches ein Stopcodon in seiner Sequenz enthält. Die Entwicklung der Pflanzen ist gestört, da das Gen an der Phytomorphogenese beteiligt ist (Bradley, J.M. et al. (1995) Plant Mol. Biol, 27, 1133).

Zahlreiche eukaryontische Protein- oder auch RNA-codierende Gene sind mosaikartig zusammengesetzt, wobei sich einzelne, für Teilbereiche des Genprodukts codierende Sequenzen (Exons) und intervenierende, nicht für das Genprodukt codierende Sequenzen (Introns) abwechseln. Die Primärtranskripte solcher Mosaikgene enthalten daher in ihrer RNA-Kette sowohl die Sequenzen der codierenden Exons als auch der nicht codierenden Introns und müssen für eine korrekte Genexpression erst noch prozessiert werden.

Einer der wesentlichen Prozessierungsschritte ist das Spleißen, das im Zellkern erfolgt. Im Falle der Expression von Protein-codierenden Genen werden hierbei aus länger-kettigen Primärtranskripten, der sog. prä-mRNA, unter Bildung von reifer mRNA Intron-RNA-Sequenzen herausgeschnitten und Exon-RNA-Sequenzen miteinander verknüpft. Der Spleißvorgang wird durch ein sogenanntes Spleißosom, einen großen Ribonucleoprotein-Komplex, katalysiert, der sich stufenweise aus mehreren kleinen nuklearen Ribonucleinprotein-Partikeln (small nuclear RNPs, snRNPs), die ihrerseits aus Uridin-reichen RNAs (small nuclear RNAs, snRNAs) und spezifisch an diese bindenden Proteinen bestehen, und aus nicht fest an diese snRNPs gebundenen Proteinen, den sog. nicht-snRNP-Spleißfaktoren, zusammenlagert. Das Spleißen erfolgt im allgemeinen nach einem zweistufigen Mechanismus, wobei in jeder Stufe ein Transesterifizierungsschritt beteiligt ist. Im ersten Schritt wird nach Bindung des Spleißosoms an die 5'-Spleißstelle und die sog. Verzweigungsstelle im Intron ein freies 5'-Exon und eine sog. Lariat-Struktur des Introns generiert, wobei das Intron noch mit dem 3'-Exon verbunden ist. Im zweiten Schritt werden dann die beiden Exons ligiert und das Intron freigesetzt.

Die Mehrzahl der Introns von prä-mRNA in Metazoen besitzt an den Enden invariable GU- und AG-Dinucleotide. Diese Introns werden durch das sog. U2-abhängige Spleißosom (oder major Spleißosom), das diese Dinukleotide erkennt, ausgeschnitten. Das Spleißosom enthält die U1, U2, U5 und U4/U6 snRNPs, die sich aus einer (U1, U2, U5) oder zwei (U4/U6) RNAs und zahlreichen Proteinen, beispielsweise Proteinen der Sm-Klasse, zusammensetzen. Die Erkennung von Spleiß- und Verzweigungsstelle der sog. U2-abhängigen Introns durch das Spleißosom erfolgt mittels Wechselwirkungen, bei denen sowohl RNA als auch Proteine beteiligt sind. So wird die Duplexbildung zwischen U1 snRNA und 5'-Spleißstelle durch verschiedene Polypeptide, wie das 70K- und das C-Protein des U1 snRNPs sowie Proteine der Familie der Ser- und Arg-reichen SR-Proteine, erleichtert. Die Basenpaarung zwischen U2-snRNA und der Verzweigungsstelle erfordert in ähnlicher Weise zahlreiche U2-snRNP-Proteine, insbesondere die Untereinheiten der heteromeren Spleißfaktoren SF3a und SF3b [R. Reed, Curr. Opin. Genet. Dev. 6, 215 (1996); C.L. Will und R. Lührmann, Curr. Opin. Cell Biol. 9, 320 (1997); A. Krämer, Annu. Rev. Biochem. 65:367 (1996)]

In jüngerer Zeit konnte ein alternatives Spleißosom, das sog. AT-AC-Spleißosom, identifiziert werden, das sich aus den U11, U12, U5 und U4atac/U6atac snRNPs zusammensetzt und eine seltene Klasse von prä-mRNA-Introns spleißt, die an ihren Termini AU- und AC-Dinucleotide oder GT und AG-Dinucleotide aufweisen [C.B. Burge et al. In: The RNA World II, R.F. Gesteland und J.F. Atkins, Hrsg., Cold Spring Harbour Press, Cold Spring Harbour, N.Y., 1999, p. 525]. Diese daher genannten U12-abhängigen Introns werden im Vergleich mit den U2-abhängigen Introns nur mit geringer Häufigkeit angetroffen und enthalten hochkonservierte Sequenzelemente an der 5'-Spleißstelle und der Verzweigungsstelle, die sich von den schwach konservierten Sequenzen der U2-abhängigen prä-mRNA-Introns unterscheiden [C.B. Burge et al. In: The RNA World II, R.F. Gesteland und J.F. Atkins, Hrsg., Cold Spring Harbour Press, Cold Spring Harbour, N.Y., 1999, p. 525; S.L. Hall und R.A. Padgett, J. Mol. Biol. 239:357 (1994); P.A. Sharp und C.B. Burge, Cell 91:875 (1997)]. Während der Zusammenlagerung des U12-abhängigen Spleißosoms bindet das U11-snRNP durch Basenpaarung mit der 5'-Spleißstelle und das U12-snRNP mit der Verzweigungsstelle [S.L. Hall und R.A. Padgett, Science 271:1716 (1996);

W.-Y. Tarn und J.A. Steitz, Cell 84:801 (1996); W.-Y. Tarn und J.A. Steitz, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94:6030 (1997); I Kolossova und R.A. Padgett, RNA 3:227 (1997)]. Anschließend erfolgt die Bildung des reifen Spleißosoms durch Assoziation der U5- und U4atac/U6atac-snRNPs [W.-Y. Tarn und J.A. Steitz, Science 273:1824 (1996)]. Die U11- und U12-snRNPs liegen in Kernextrakten als hochstabile 18S-U11/U12-Komplexe vor [K.M. Wassarman und J.A. Steitz, Mol. Cell Biol. 8, 1276 (1992)], und jüngere in-vitro-Bindungsstudien lassen vermuten, daß U11 und U12 mit der prä-mRNA als vorgebildeter Komplex in Wechselwirkung treten [M. Frilander und J.A. Seitz, Genes & Dev. 13:851 (1999)]. Diese Beobachtungen lassen zusammen mit der Tatsache, daß Introns vom U12-Typ nicht den wesentlichen Pyrimidintrakt der 3'-Spleißstelle der Hauptklasse-Introns aufweisen, vermuten, daß zwischen den Mechanismen der Spleißstellenerkennung bei den verschiedenen Spleißosomen Unterschiede bestehen.

Die Identifizierung und Charakterisierung der für das U12-abhängige Spleißosom charakteristischen Proteine könnte daher nicht nur Aufschluß über den genauen Mechanismus der in diesem Spleißosom ablaufenden Spleißvorgänge liefern, sondern gleichzeitig eine Diagnose und Therapie von Krankheiten ermöglichen, die auf Störungen im Spleißmechanismus dieses Spleißosoms zurückzuführen sind. Die Bereitstellung spezifischer Proteine ermöglicht ferner das Auffinden und die Entwicklung potentieller Spleißmodulatoren, die ebenfalls vorteilhaft bei der Behandlung von durch Störungen des Spleißvorgangs bedingten Erkrankungen eingesetzt werden können.

Aufgabe der vorliegenden Erfindung war es daher, ein für das U12-abhängige Spleißosom charakteristisches Protein bereitzustellen.

Diese Aufgabe konnte durch ein Spleißosomprotein gelöst werden, das mit dem 18S U11/U12 snRNP-Komplex des U12-abhängigen Spleißosoms assoziiert ist und spezifisch für dieses Spleißosom ist.

Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist daher ein Spleißosomprotein mit der Funktion des mit dem U11/U12 snRNP-Komplex des U12-abhängigen Spleißosoms assoziierten 35kD-Proteins, welches durch eine Nukleinsäure (nachstehend

erfindungsgemäß Nukleinsäure) codiert wird, die aus der Gruppe ausgewählt ist bestehend aus

- a) DNA-Sequenzen, die ein Protein mit der Aminosäuresequenz nach SEQ ID No. 18 codieren;
- b) DNA-Sequenzen, die mit den zu den Sequenzen unter a) komplementären Sequenzen hybridisieren und befähigt sind, ein Protein mit der Funktion des 35kD-Proteins des U11/U12 snRNP-Komplexes zu codieren; und
- c) DNA-Sequenzen, die in ihrem genetischen Code bezüglich der unter a) oder b) genannten Sequenzen degeneriert sind;

Unter „Spleißosomprotein mit der Funktion des mit dem U11/U12 snRNP-Komplex des U12-abhängigen Spleißosoms assoziierten 35kD-Proteins (nachstehend erfindungsgemäßes Spleißosomprotein)“ ist hierbei jedes Polypeptid zu verstehen, das im wesentlichen die Eigenschaften des natürlich vorkommenden, vorzugsweise des humanen, 35kD-Proteins des U11/U12 snRNP-Komplexes besitzt, also im Spleißosomkomplex die korrekte Funktion des genannten Spleißosoms gewährleistet.

Der Begriff Hybridisierung bedeutet hier eine Hybridisierung unter üblichen Hybridisierungsbedingungen, insbesondere unter stringenten Hybridisierungsbedingungen, wie sie dem Fachmann bekannt sind [vgl. Sambrook et al., Molecular Cloning, A Laboratory Manual, 2. Aufl., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989)].

Bevorzugt besitzt das Spleißosomprotein die Aminosäuresequenz gemäß SEQ ID No. 18. Das Protein kann jedoch auch ein oder mehrere Aminosäuredeletionen, Aminosäureaustausche oder Aminosäureadditionen oder -insertionen aufweisen, solange die Funktion des Proteins dadurch nicht wesentlich beeinträchtigt wird.

Beispielsweise kann das Spleißosomprotein ebenfalls fremde Proteinsequenzen enthalten (z.B. als Fusionsprotein).

Das bevorzugte erfindungsgemäße Spleißosomprotein mit einer Länge von 246 Aminosäuren besitzt ein apparentes Molekulargewicht, bestimmt durch SDS-Page, von ungefähr 35kD und ein berechnetes Molekulargewicht von 29kD und einen isoelektrischen Punkt von 9,88.

Ein weiterer Gegenstand sind die für dieses Protein codierenden DNA-Sequenzen nach Anspruch 1, zu diesen Sequenzen komplementäre Sequenzen, sowie Fragmente davon.

Diese DNA-Sequenzen können mit anderen DNA-Sequenzen, insbesondere Sequenzen, die die Expression des Proteins in einem gewünschten Wirtsorganismus ermöglichen, verknüpft werden. Solche Sequenzen sind im Stand der Technik bekannt. Es handelt sich hierbei beispielsweise um regulatorische Sequenzen wie Promotorsequenzen, Shine-Dalgarno-Sequenzen, Transkriptionsterminationssignale, Polyadenylierungs-signale oder Enhancer-Elemente. Auf diese Weise läßt sich das gewünschte Protein kostengünstig in großen Mengen gewinnen.

Gegenstand der Erfindung sind daher auch rekombinante DNA-Moleküle, die die erfindungsgemäßen DNA-Sequenzen enthalten.

Die rekombinanten DNA-Moleküle können entweder direkt in den gewünschten Wirtsorganismus eingeschleust werden oder zuerst in Vektoren eingebaut werden, mit denen die Wirtsorganismen anschließend in an sich bekannter Weise transformiert werden. Solche Vektoren sind ebenfalls Gegenstand der Erfindung. Als Vektoren können die im Stand der Technik üblichen Vektoren, beispielsweise Plasmide, Bakteriophagen oder Viren, verwendet werden. Bevorzugte Vektoren sind Expressionsvektoren.

Ebenfalls Gegenstand der Erfindung sind Wirtsorganismen, die die erfindungsgemäßen rekombinanten DNA-Moleküle oder Vektoren enthalten.

5 Geeignete Wirtsorganismen sind beispielsweise prokaryontische oder eukaryontische Mikroorganismen, beispielsweise Bakterien wie Escherichia Coli, Hefen oder Gewebezellen.

10 Die erfindungsgemäßen DNA-Sequenzen oder Fragmente davon können dazu verwendet werden, homologe DNA-Sequenzen in verschiedenen Organismen oder Gewebetypen aufzufinden, die eine ähnliche oder gleiche Funktion wie das erfindungsgemäße Spleißosomprotein besitzen.

15 Das erfindungsgemäße Protein und die für dieses Protein codierenden DNA-Sequenzen lassen sich ferner vorteilhaft als Diagnostika, beispielsweise für Autoimmunkrankheiten und von Erkrankungen, die auf Störungen im Spleißmechanismus zurückzuführen sind.

20 So ist es bekannt, daß Spleißosomkomponenten als Autoantigene wirken können. Patienten, die von der Autoimmunkrankheit Systemischer Lupus erythematoses betroffen sind, produzieren beispielsweise häufig Antikörper, mit denen die meisten snRNPs präzipitierbar sind. Das erfindungsgemäße Protein eröffnet nunmehr auf dem Wege eines einfachen Immunassays eine Möglichkeit zur raschen Diagnose von Autoimmunerkrankungen, die auf einer Bildung von Antikörpern gegen Proteine beruhen, die für U12-abhängige Spleißosom spezifisch sind.

25 Krankheiten, die auf Störungen im Spleißmechanismus des U12-abhängigen Spleißosoms zurückzuführen sind, die auf einem Defekt im 35kD-Proteins beruhen, lassen sich beispielsweise mit Hilfe von Komplementationstests in im Stand der Technik bekannten in-vitro-Spleißsystemen diagnostizieren. Hierbei wird
30 beispielsweise durch in-vitro-Transkription zunächst eine prä-mRNA mit einem U12-abhängigen Intron hergestellt, das sämtliche Strukturelemente enthält, die für die Erkennung der prä-mRNA durch das Spleißosom und für den Spleißvorgang notwendig sind. Die RNA wird beispielsweise radioaktiv markiert, damit später nach

Auftrennung auf einem denaturierenden Harnstoff-Polyacrylamidgel aufgrund der charakteristischen Bandenmuster beurteilt werden kann, ob eine Spleißreaktion stattgefunden hat. Anschließend werden Proben aus Patientengewebe mit und ohne Zusatz des erfindungsgemäßen 35kD-Proteins getestet. Eine Komplementation weist dann den Defekt in besagtem Protein nach.

Ein weiteres verwendbares in vitro Spleißsystem ist in PCT/EP 00/01595 beschrieben.

Die erfindungsgemäßen DNA-Sequenzen können im Wege üblicher Hybridisierungstests zur Diagnose von Defekten im Gen für das beschriebenen 35kD-Protein eingesetzt werden, insbesondere bei der pränatalen Diagnostik.

Das erfindungsgemäße Protein kann ferner als Therapeutikum bei auf Spleißdefekten beruhenden Erkrankungen verwendet werden.

Ferner läßt sich das erfindungsgemäße Spleißosomprotein vorteilhaft zum Auffinden oder Entwickeln von Spleißmodulatoren, z.B. Spleißinhibitoren, verwenden, die dann zur Behandlung weiterer Krankheiten geeignet sind. So wurden jüngst ein U12-abhängiges Intron in den mutanten Genen identifiziert, die für das autosomal rezessive Hermansky-Pudlak-Syndrom (HPS) verantwortlich sind. Es ist zu erwarten, daß solche Introns in Zukunft auch noch in weiteren Genen gefunden werden, denen ein Rolle bei genetisch bedingten Erkrankungen zugeschrieben werden kann. Eine gezielte Inhibierung des Spleißens der in solchen Genen vorhandenen Introns und damit der Expression der schädlichen mutierten Gene stellt daher einen möglichen Weg zur Therapie der genannten Krankheiten dar. Wegen des seltenen Vorkommens der U12-abhängigen Introns können solche Spleißinhibitoren bei U12-abhängigen Spleißosomen auch therapeutisch wirksamer eingesetzt werden als bei U2-abhängigen Spleißosomen.

Zur Auffindung der gesuchten Spleißmodulatoren können die bereits oben erwähnten, bekannten in-vitro-Testsysteme zur Untersuchung von Spleißmechanismen verwendet werden. Spleißmodulatoren oder -inhibitoren, die

sich auf diese Weise analysieren lassen, sind beispielsweise monoclonale Antikörper. So wurde die Beeinflussung von Spleißvorgängen in der Zelle mit Hilfe von Antiseren oder monoclonalen Antikörpern, beispielsweise der Generierung reifer mRNA, bereits beschrieben [R.A. Padgett et al, Cell 35:10 (1983); R. Gattoni et al, Nucleic Acid Res. 24:2535 (1996)].

Auch für die Virologie ist die Identifizierung der regulatorischen Prozesse beim Spleißen durch das Minor Spleißosom von Bedeutung. Kürzlich (Hibbert et al., 1999) wurde eine Sequenz der U1 5'-Spleißstelle in einer Region des negativen Spleißregulatorelements (NRS) im Rous Sarcoma Virus identifiziert. Die Bindung des U1 snRNPs an das NRS inhibiert den Spleißprozeß, steigert also die Aktivität des NRS.

Die U1-Bindungsstelle überlappt mit einer U11-Bindungsstelle, die identisch zu einer Sequenz am NRS in der 5'-Spleißstelle des U12-abhängigen Spleißosoms ist. Die U11 snRNP-Bindung an das NRS fördert das Spleißen, mindert also die NRS-Aktivität. Die Konkurrenz zwischen U1- und U11 snRNPs trägt zur Einstellung des Gleichgewichts zwischen gespleißten und ungespleißten viralen RNAs zwecks optimaler viraler Replikation bei.

Wie die Studien von Hibbert et al. (1999) zeigen, würden gezielte Mutationen an der U1- bzw. U11-Bindungsdomäne zur Beeinflussung, eventuell sogar zur Kontrolle der viralen Lebenszyklen beitragen können. Eine Strategie, um die U11/NRS-Interaktion zu inhibieren, könnte mittels der in dieser Arbeit gewonnenen Informationen bezüglich des prä-spleißosomalen Charakters entwickelt werden.

Daher betrifft die Erfindung ebenfalls ein Arzneimittel enthaltend eine erfindungsgemäße Nukleinsäure und/oder ein erfindungsgemäßes Spleißosomprotein und gegebenenfalls pharmazeutisch annehmbare Zusatz- und/oder Hilfsstoffe.

Des weiteren betrifft die Erfindung ein Verfahren zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von Krebs, Autoimmunkrankheiten, insbesondere Grave's Krankheit,

spinale Muskelatrophie, β' -Thalassaemie, Krebserkrankungen in bezug auf das c-erb-Onkogen, Hepatitis C Infektion, Herpes Simplex Virus Infektion, Systemischer Lupus erythematodes, Hermansky-Pudlak-Syndrom, wobei eine erfindungsgemäße Nukleinsäure oder ein erfindungsgemäßes Spleißosomprotein formuliert wird.

5

Ebenfalls betrifft die Erfindung ein Diagnostikum enthaltend eine erfindungsgemäße Nukleinsäure und/oder ein erfindungsgemäßes Spleißosomprotein und gegebenenfalls pharmazeutisch annehmbare Zusatz- und/oder Hilfsstoffe.

10

Des weiteren betrifft die Erfindung ein Verfahren zur Herstellung eines Diagnostikums zur Diagnose von Grave's Krankheit, spinale Muskelatrophie, β' -Thalassaemie, Krebserkrankungen in bezug auf das c-erb-Onkogen, Hepatitis C Infektion, Herpes Simplex Virus Infektion, Systemischer Lupus erythematodes, Hermansky-Pudlak-Syndrom, wobei eine erfindungsgemäße Nukleinsäure und/oder ein erfindungsgemäßes Spleißosomprotein mit einem pharmazeutisch annehmbaren Träger versetzt wird.

15

Beschreibung der Figuren und wichtigste Sequenzen:

20

Fig.1 zeigt die snRNA-Zusammensetzung gereinigter snRNPs.

Fig.2 zeigt die Proteinzusammensetzung von mit Oligonucleotiden selektierten U11/U12 snRNPs.

25

SEQ ID No. 17 zeigt die genomische DNA-Sequenz für das U12-assoziierte 35kD-Protein einschließlich nicht-codierender Sequenzen. Die codierende Sequenz ist durch die untrige abgeleiteten Aminosäuresequenz gezeigt und entspricht SEQ ID No 18.

30

SEQ ID No. 18 zeigt die Aminosäuresequenz des U12-assoziierten 35kD-Proteins bestehend aus 246 Aminosäuren.

Die Isolierung des erfindungsgemäßen U11/U12-assoziierten 35kD-Proteins wird im folgenden beispielhaft erläutert.

Die nachfolgenden Beispiele dienen zur näheren Erläuterung der Erfindung, ohne sie auf diese Beispiele einzuschränken.

Beispiele

Präparation von HeLa-Kernextrakten

Zur Herstellung von Kernextrakten aus HeLa-Zellen wurden Zellkulturen mit HeLa-Zellen kultiviert. Dann wurden die Zellen durch Zentrifugation (1000 x g, 10 Min.) aus dem Kulturmedium sedimentiert und mit Phosphatpuffer gewaschen. Anschließend wurde das Zellsediment in fünffachem Volumen Puffer A (10mM HEPES, 1,5 mM MgCl₂, 10mM KCl, 0,5 mM DTT, pH 7,9, 4 °C) aufgenommen und 10 Minuten inkubiert. Die Zellen wurden erneut sedimentiert und in zweifachem Volumen Puffer A aufgenommen. Diese Suspension wurde mit einem Dounce Homogenisator (Pistill B) aufgeschlossen (10-faches Auf- und Abbewegen des Pistills). Die Kerne wurden durch Zentrifugation sedimentiert. Anschließend wurden die Kerne erneut in Puffer A aufgenommen und für 20 Minuten bei 25.000 x g zentrifugiert. Das Sediment wurde in 3 ml Puffer B (20 mM HEPES, 25 % (v/v) Glycerin, 0,42 M NaCl, 1,5 mM MgCl₂, 0,2 mM EDTA, 0,5 mM Phenylmethylsulfonylfluorid (PMSF), 0,5 mM DTT, pH 7,9) aufgenommen und erneut mit dem Dounce Homogenisator aufgeschlossen. Die entstehende Suspension wurde 30 Minuten auf einem Magnetrührer inkubiert und anschließend bei 25.000 x g für 30 Minuten zentrifugiert. Erneut schloß sich eine Zentrifugation bei 25.000 x g (30 Min.) an. Der Überstand wurde gegen das 50-fache Volumen Puffer C (20 mM HEPES, 20 % (v/v) Glycerin, 0,1 M KCl, 0,2 mM EDTA, 0,5 mM PMSF, 0,5 mM DTT, pH 7,9) dialysiert. Das Dialysat wurde zentrifugiert (25.000 x g, 20 Min.). Der resultierende Überstand kann als Kernextrakt in flüssigem Stickstoff gelagert werden (Dignam, J. D. et al. (1983) Nucleic Acid Res., 11, 1475).

Isolierung und Analyse von snRNPs

Spleißosomale snRNPs, die zuvor mit einem Trimethylguanosin (m3G)-Cap versehen worden waren, wurden aus Kernextrakten von HeLa-Zellen durch Immunaффinitäts-Chromatographie mit anti-m3G-Antikörpern gereinigt und durch Sedimentation durch einen 10-30%igen Glyceringradienten fraktioniert [B. Lagerbauer, J. Lauber und R. Lührmann, *Nucleic Acids Res.* 24:868 (1996)].

5 Fraktionen, die die 18 S U11/U12 snRNP-Komplexe enthielten, wurden gepoolt und die KCl-Konzentration auf 250 mM eingestellt. Die snRNPs von 2,4 ml der gepoolten 18S-Gradientenfraktionen wurden 16h bei 4°C mit 12 µg Oligonukleotid, das entweder zu den Nukleotiden 2-18 von humaner U11 snRNA,

10 5'ACGACAGAAGCCCUUUUdT*dt*dT*dT*-3' (U11-Oligo), oder zu den Nukleotiden 11-28 von humaner U12 snRNA, 5'-AUUUUCCUUACUCAUAAGdT*dt*dT*dT*-3' (U12-Oligo), komplementär ist, inkubiert, wobei * ein biotinyliertes 2'-Deoxythymidin und A, U, G und C 2'-O-methylribonucleotide bedeuten. Die Oligonukleotid-gebundenen snRNPs wurden mit Streptavidin-Agarose in an sich bekannter Weise

15 präzipitiert [A.I. Lamond und B.S. Sproat, in *RNA Processing: A Practical Approach*, D. Rickwood und B.D. Hames, Hrsg. (Oxford University Press, Oxford, 1996) p. 103]. Die RNA aus 1/5 der Agarose-präzipitierten snRNPs wurde durch 30-minütige Inkubation bei 95°C in 100 µl DH-Puffer (15 mM NaCl, 1,5 mM NaCitrat, 0,1 % SDS) eluiert, auf 10%igen Polyacrylamid-7M-Harnstoff-Gelen fraktioniert und durch

20 Silberfärbung sichtbar gemacht. Die Identität der selektierten RNAs als U11 und U12 wurde durch Northern-Blotting bestätigt. Von den restlichen Kügelchen wurde das Protein durch 5-minütige Inkubation bei 95°C in 200 µl S-Puffer (60 mM Tris, pH 6,8, 1 mM EDTA, 17,5% Glycerin, 2% SDS, 0,2 M DTE) eluiert und mit 5 Volumeneinheiten Aceton präzipitiert. Die Proteine wurden durch SDS-PAGE auf

25 Gelen mit 10% (obere Hälfte) und 13% (untere Hälfte) Polyacrylamid fraktioniert und durch Coomassie-Färbung sichtbar gemacht. Zum Vergleich wurden auch RNA und Protein aus 50 µl des Ausgangsmaterials (gepoolte 18S-Gradientenfraktionen) analysiert.

30 Die Ergebnisse für das U11-Oligo sind in Fig. 1, Spur 2, diejenigen für das U12-Oligo in Fig. 1, Spur 3, dargestellt. Spur 1 zeigt die snRNAs des Ausgangsmaterials (Input); Spur 4 zeigt die Kontrolle der Präzipitation in Abwesenheit von Oligonukleotiden (Mock). Die Koselektion von U12 mit einem gegen U11 gerichteten

Oligonucleotid und umgekehrt zeigte, daß hauptsächlich U11/U12 snRNP-Komplexe und nicht U11- oder U12-Monopartikel selektiert worden waren. Dementsprechend zeigt Fig. 2, Spuren 2 und 3, identische Proteinmuster der U11/U12 snRNPs, unabhängig davon, mit welchem Oligonucleotid diese selektiert worden waren. Das Molekulargewicht der Proteine (in kD) ist rechts angegeben. Spur 1 zeigt wiederum die Proteine des Ausgangsmaterials (Input) und deren Identität (linke Seite). Spur 4: Kontrolle.

Identifizierung von mit dem U11/U12 snRNP-Komplex assoziierten Proteinen

Von den 20 unterschiedlichen im U11/U12-Komplex gefundenen Proteinen migrierten 8 mit den Sm snRNP-Kernproteinen B', B, D3, D2, D1, E, F, und G, die in den snRNPs des major Spleißosoms anwesend sind (Fig. 2, Spuren 1-3). Antikörper, die spezifisch mit B'/B, D3, D2, F oder G reagierten, erkannten auch die Proteine identischen Molekulargewichts auf Immunoblots des U11/U12-Komplexes. U11/U12 enthält daher dieselben 8 Sm-Proteine, die auch im major Spleißosom gefunden werden.

Von den 12 restlichen U11/U12 Proteinen migrierten die 160kD-, 150kD-, 130kD- und 49kD-Proteine des U11/U12-Komplexes mit vier der für den 17S U2-Komplex spezifischen Proteine, die den essentiellen Spleißfaktor SF3b ausmachen, nämlich U2-160, U2-150, U2-120 und U2-53. Antikörper, die gegen U2-160, U2-150 und U2-120 gerichtet waren, reagierten außerdem stark mit den 160kD-, 150kD und 130kD-Proteinen des U11/U12-Komplexes. Peptidsequenzen, die durch Mikrosequenzierung der 160kD-, 150kD-, 130kD- und 49kD-Proteine des U11/U12-Komplexes erhalten worden waren (Tabelle I), erwiesen sich als im wesentlichen identisch mit den bekannten Sequenzen von SF3b. Die genannten vier Proteine sind also mit hoher Wahrscheinlichkeit mit den aus SF3b bekannten Proteinen identisch, wobei Abweichungen in den apparenten Molekulargewichten einiger der comigrierenden Proteine auf Unterschiede in den Elektrophoresebedingungen zurückzuführen sind, die bei der ursprünglichen Identifizierung der U2 snRNP-Proteine angewandt wurden.

Tabelle I

5	U11/U12	Peptide
	Protein	
	160kD	KMNARTYMDVMREQHLTK KLTATPTPLGGMTGF KAIVNVIGMH
10	150kD	KRIFEAFK KLRRMNRFTVAE KRTGIQEMREALQEK KLTIHGDLYYEG
15	130kD	KLGAVERNQVAFPLQYT KLLRVYDLGK KNVSEELDRTPPEVSK KLENIAQRYAF
20	49kD	KVSEPLLXELFLQ KDRV TGQH QGYGFVEFLSEE

X bedeutet hierbei eine beliebige Aminosäure

25 Charakterisierung des mit dem U11/U12 snRNP-Komplex assoziierten 35kD-Proteins

30 Von den restlichen Proteinen wurde das mit dem U11/U12 snRNP-Komplex assoziierte 35kD-Protein charakterisiert. Hierzu wurden durch Mikrosequenzierung von dem gelfraktionierten, Trypsin-verdauten 35kD-Protein die Peptide KEYDPLK und KRWQEREPTRVWPDND erhalten. Mit diesen Peptiden wurde mittels des TBLASTN-Programms in der EST-Datenbank des National Center for Biotechnology Information eine Suche nach cDNAs durchgeführt. Beide Peptide wurden in einem

ORF einer cDNA aus humanen Makrophagenzellen (Genbank-Accession-No. U44798), die für ein unbekanntes Protein codierte, gefunden. Eine zweite cDNA aus humanen Muskelzellen mit einem identischen ORF (Genbank-Accession No. AA211268) in pBluescript SK wurde nach Transformation in E.coli HB101 mit einem
5 ABI PRISM-Sequencenalyser vollständig sequenziert. Die für das 35kD-Protein codierende DNA-Sequenz ist in SEQ ID No. 17 zusammen mit der davon abgeleiteten Aminosäuresequenz wiedergegeben. In SEQ ID No. 17 ist die vollständige cDNA-Sequenz einschließlich nicht-codierender 5'- und 3'-Sequenzen inhärent gezeigt.

10 Von der cDNA wurde durch in-vitro-Translation Protein hergestellt (TNT (Coupled Transcription/Translation)-Kit der Fa. Promega). Das Protein migrierte auf einem SDS-Polyacrylamidgel zusammen mit dem gereinigten 35kD-Protein, was zeigte, daß die DNA vollständiges Protein codierte.

15 Das U11/U12-35kD-Protein besitzt ein RNA-Erkennungsmotiv (RRM; Aminosäuren 51-129). Diese Region und die benachbarte Glycin-reiche Region sind sehr ähnlich zu einer Region des U1-70K-Proteins. Antiseren gegen das 35kD-Protein präzipitierten darüber hinaus effizient U11 aus einer Mischung von durch einen
20 Gradienten fraktionierten snRNPs, die U11-Monopartikel enthielten. Analog zu U1-70K dürfte das U11-35kD-Protein daher die Erkennung der 5'-Spleißstelle erleichtern. Ferner dürfte das Protein in Wechselwirkung mit Komponenten des major Spleißosoms an der Exonverknüpfung beteiligt sein.

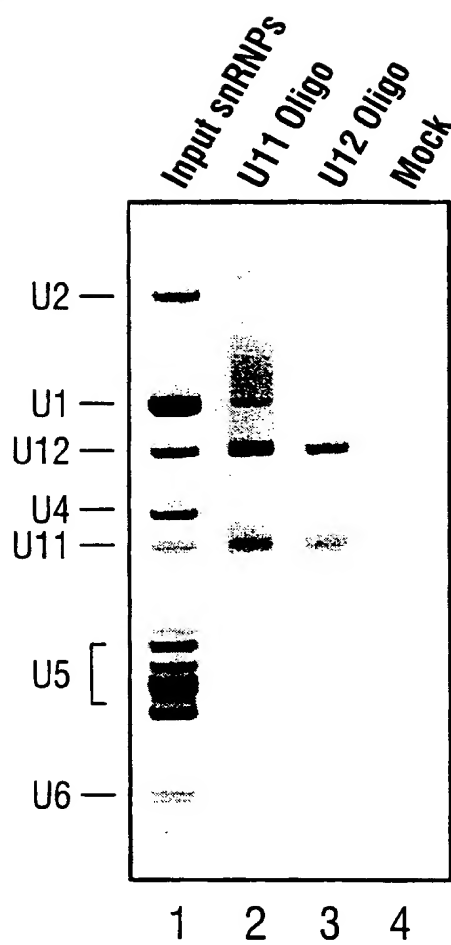
Patentansprüche

1. DNA-Sequenz codierend für ein Spleißosomprotein mit der Funktion des mit dem U11/U12 snRNP-Komplex des U12-Spleißosoms assoziierten 35kD-Proteins, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus
- 5
- a) DNA-Sequenzen, die ein Protein mit der Aminosäuresequenz nach SEQ ID No. 18 codieren;
- 10
- b) DNA-Sequenzen, die mit den zu den Sequenzen unter a) komplementären Sequenzen hybridisieren und befähigt sind, ein Protein mit den funktionellen Eigenschaften des 35kD-Proteins des U11/U12 snRNP-Komplexes zu codieren; und
- 15
- c) DNA-Sequenzen, die in ihrem genetischen Code bezüglich der unter a) oder b) genannten Sequenzen degeneriert sind;
- sowie Fragmente dieser Sequenzen und die zu den unter a), b) und c) genannten Sequenzen oder den Fragmenten davon komplementären
- 20
- Sequenzen.
2. DNA-Sequenz nach Anspruch 1, umfassend die Nukleotidsequenz nach SEQ ID No. 17, hierzu komplementäre Sequenzen sowie Fragmente dieser
- 25
- Sequenzen.
3. Rekombinantes DNA-Molekül, enthaltend eine DNA-Sequenz nach Anspruch 1 oder 2.
- 30
4. Rekombinantes DNA-Molekül nach Anspruch 3, worin die für das Spleißosomprotein codierende DNA mit regulatorischen Sequenzen verknüpft ist, die die Expression des Proteins in prokaryontischen oder eukaryontischen Zellen ermöglichen.

5. Vektor, enthaltend eine Sequenz nach Anspruch 1 oder 2 oder ein rekombinantes DNA-Molekül nach einem der Ansprüche 3 oder 4.
- 5 6. Wirtsorganismus, enthaltend ein rekombinantes DNA-Molekül nach irgendeinem der Ansprüche 3 oder 4 oder einen Vektor nach Anspruch 5.
7. Wirtsorganismus nach Anspruch 6, welcher ein prokaryontischer Mikroorganismus ist.
- 10 8. Wirtsorganismus nach Anspruch 6, welcher ein eukaryontischer Mikroorganismus ist.
9. Spleißosomprotein mit der Funktion des mit dem U11/U12 snRNP-Komplexes des U12-Spleißosoms assoziierten 35kD-Proteins, welches durch eine der
15 Sequenzen nach Anspruch 1 oder 2 codiert wird.
10. Spleißosomprotein nach Anspruch 9, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus
 - 20 a) einem Polypeptid mit der Aminosäuresequenz nach SEQ ID No. 18;
 - b) einem Polypeptid, das im Vergleich mit der Sequenz nach a) eine oder mehrere Aminosäuredeletionen, Aminosäureaustausche, Aminosäureadditionen und/oder Aminosäureinsertionen aufweist.
- 25 11. Verwendung einer DNA-Sequenz nach Anspruch 1 oder 2 oder eines Fragments davon zur Isolierung homologer DNA- oder RNA-Sequenzen.
12. Verwendung eines Spleißosomproteins nach Anspruch 9 zum Auffinden von
30 Spleißmodulatoren.

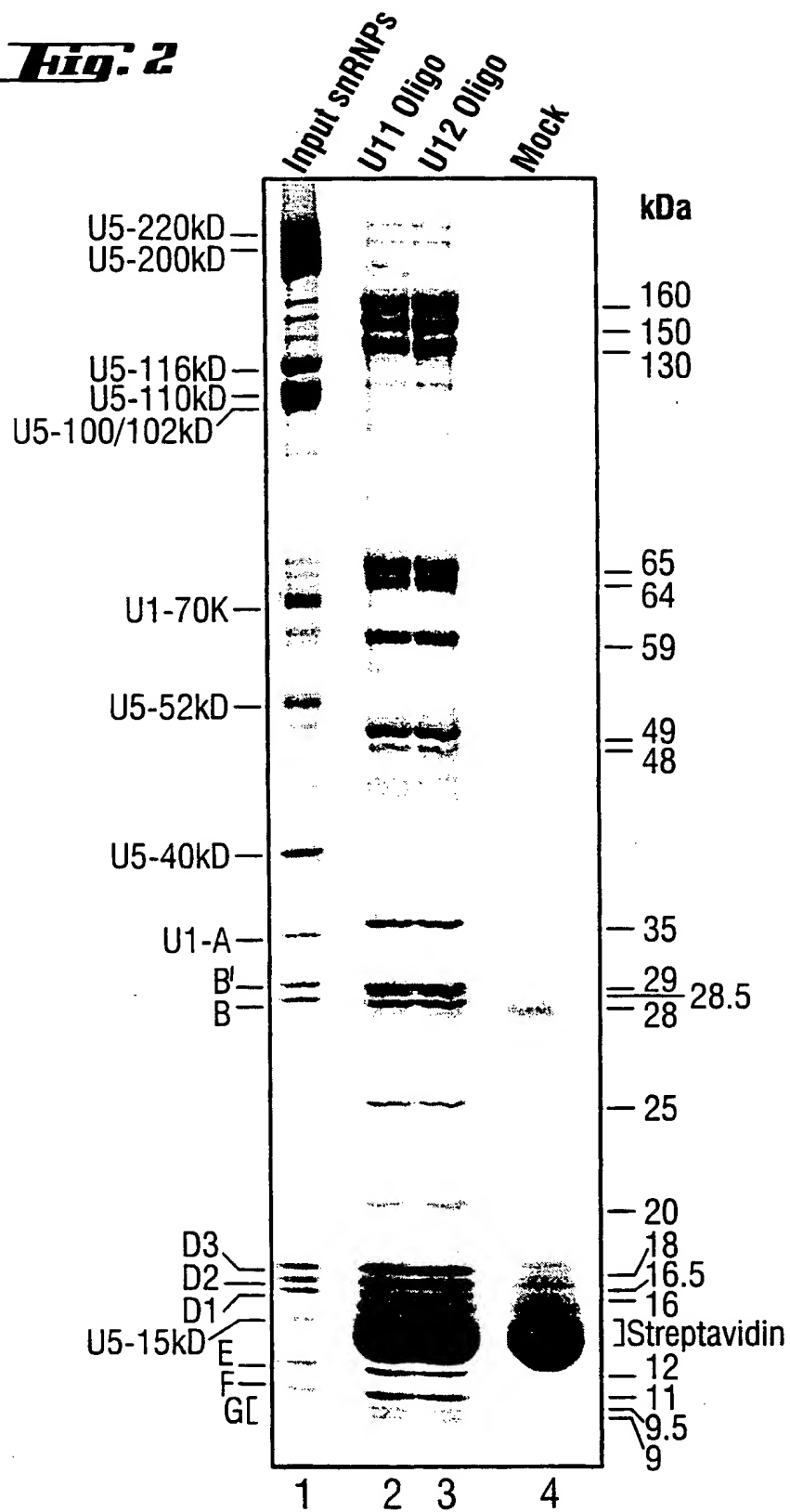
13. Arzneimittel enthaltend eine Nukleinsäure gemäß einem der Ansprüche 1 bis 4 und/oder ein Spleißosomprotein gemäß einer der Ansprüche 9 oder 10 und gegebenenfalls pharmazeutisch annehmbare Zusatz- und/oder Hilfsstoffe.
- 5 14. Verfahren zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von Krebs, Autoimmunkrankheiten, insbesondere Grave's Krankheit, spinale Muskelatrophie, β' -Thalassaemie, Krebserkrankungen in bezug auf das c-erb-Onkogen, Hepatitis C Infektion, Herpes Simplex Virus Infektion, Systemischer Lupus erythematodes, Hermansky-Pudlak-Syndrom, dadurch gekennzeichnet,
10 daß eine Nukleinsäure gemäß einem der Ansprüche 1 bis 4 und/oder ein Spleißosomprotein gemäß einer der Ansprüche 9 oder 10 mit einem pharmazeutisch annehmbaren Zusatz- und/oder Hilfsstoff formuliert wird.
- 15 15. Diagnostikum enthaltend Nukleinsäure gemäß einem der Ansprüche 1 bis 4 und/oder ein Spleißosomprotein gemäß einer der Ansprüche 9 oder 10 und gegebenenfalls pharmazeutisch annehmbare Zusatz- und/oder Hilfsstoffe.
- 20 16. Verfahren zur Herstellung eines Diagnostikums zur Diagnose von Grave's Krankheit, spinale Muskelatrophie, β' -Thalassaemie, Krebserkrankungen in bezug auf das c-erb-Onkogen, Hepatitis C Infektion, Herpes Simplex Virus Infektion, Systemischer Lupus erythematodes, Hermansky-Pudlak-Syndrom, dadurch gekennzeichnet, daß eine Nukleinsäure gemäß einem der Ansprüche 1 bis 4 und/oder ein Spleißosomprotein gemäß einer der Ansprüche 9 oder 10 mit einem pharmazeutisch annehmbaren Träger versetzt wird.

1 / 2

Fig. 1

2 / 2

Fig. 2



SEQUENZPROTOKOLL

<110> Aventis Research & Technologies GmbH & Co KG

<120> Spleißosomprotein und seine Verwendung

<130> 99f032

<140> 19925668.3

<141> 1999-06-04

<160> 18

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 18

<212> PRT

<213> HeLa-Zellen

<400> 1

Lys Met Asn Ala Arg Thr Tyr Met Asp Val Met Arg Glu Gln His Leu
1 5 10 15

Thr Lys

<210> 2

<211> 15

<212> PRT

<213> HeLa-Zellen

<400> 2

Lys Leu Thr Ala Thr Pro Thr Pro Leu Gly Gly Met Thr Gly Phe
1 5 10 15

<210> 3

<211> 10

<212> PRT

<213> HeLa-Zellen

<400> 3

Lys Ala Ile Val Asn Val Ile Gly Met His
1 5 10

<210> 4
<211> 8
<212> PRT
<213> HeLa-Zellen

<400> 4
Lys Arg Ile Phe Glu Ala Phe Lys
1 5

<210> 5
<211> 12
<212> PRT
<213> HeLa-Zellen

<400> 5
Lys Leu Arg Arg Met Asn Arg Phe Thr Val Ala Glu
1 5 10

<210> 6
<211> 15
<212> PRT
<213> HeLa-Zellen

<400> 6
Lys Arg Thr Gly Ile Gln Glu Met Arg Glu Ala Leu Gln Glu Lys
1 5 10 15

<210> 7
<211> 12
<212> PRT
<213> HeLa-Zellen

<400> 7
Lys Leu Thr Ile His Gly Asp Leu Tyr Tyr Glu Gly
1 5 10

<210> 8

<211> 16

<212> PRT

<213> HeLa-Zellen

<400> 8

Lys Leu Gly Ala Val Phe Asn Gln Val Ala Phe Pro Leu Gln Tyr Thr
1 5 10 15

<210> 9

<211> 10

<212> PRT

<213> HeLa-Zellen

<400> 9

Lys Leu Leu Arg Val Tyr Asp Leu Gly Lys
1 5 10

<210> 10

<211> 16

<212> PRT

<213> HeLa-Zellen

<400> 10

Lys Asn Val Ser Glu Glu Leu Asp Arg Thr Pro Pro Glu Val Ser Lys
1 5 10 15

<210> 11

<211> 11

<212> PRT

<213> HeLa-Zellen

<400> 11

Lys Leu Glu Asn Ile Ala Gln Arg Tyr Ala Phe
1 5 10

<210> 12

<211> 13

<212> PRT

<213> HeLa-Zellen

<400> 12

Lys Val Ser Glu Pro Leu Leu Xaa Glu Leu Phe Leu Gln
1 5 10

<210> 13

<211> 20

<212> PRT

<213> HeLa-Zellen

<400> 13

Lys Asp Arg Val Thr Gly Gln His Gln Gly Tyr Gly Phe Val Glu Phe
1 5 10 15

Leu Ser Glu Glu
20

<210> 14

<211> 7

<212> PRT

<213> HeLa-Zellen

<400> 14

Lys Glu Tyr Asp Pro Leu Lys
1 5

<210> 15

<211> 16

<212> PRT

<213> HeLa-Zellen

<400> 15

Lys Arg Trp Arg Thr Arg Val Trp Asp Asn Asp
1 5 10

<210> 16

<211> 22

<212> RNA

<213> HeLa-Zellen

<400> 16

auuuuccuua cucauaagdd dd

22

<210> 17

<211> 1067

<212> DNA

<213> HeLa-Zellen

<220>

<221> CDS

<222> (214)..(954)

<400> 17

```

ctgacatcag gagtttgagg ccggcttgga acatggtgaa atcctgtctg tactagaaat 60
gcaaaaatta gctgggcgtg gtggtgtgtg tctgtgatcc cagctgctcg gcctcccaag 120
gtgctgggat tacaggcgtg agccaccgag tctggcctca gccaaaggttt ttaagtaaca 180
tatttcagca ttggctctac agcgttgacg aac atg aac gat tgg atg ccc atc 234
                               Met Asn Asp Trp Met Pro Ile
                               1             5

gcc aag gag tat gat cca ctc aaa gcg ggc agc att gat ggc acc gat 282
Ala Lys Glu Tyr Asp Pro Leu Lys Ala Gly Ser Ile Asp Gly Thr Asp
          10             15             20

gaa gac cca cac gac cgc gcg gtc tgg agg gca atg ctg gca cga tat 330
Glu Asp Pro His Asp Arg Ala Val Trp Arg Ala Met Leu Ala Arg Tyr
          25             30             35

gtc ccc aac aaa ggt gtc ata gga gat ccc ctc ctc acc ctg ttt gtg 378
Val Pro Asn Lys Gly Val Ile Gly Asp Pro Leu Leu Thr Leu Phe Val
          40             45             50             55

gcc aga cta aac ttg cag acc aag gag gac aaa tta aag gaa gtc ttt 426
Ala Arg Leu Asn Leu Gln Thr Lys Glu Asp Lys Leu Lys Glu Val Phe
          60             65             70

tcc cgc tat ggt gac atc cgg cgg ctt cgg ctg gtc agg gac ttg gtc 474
Ser Arg Tyr Gly Asp Ile Arg Arg Leu Arg Leu Val Arg Asp Leu Val
          75             80             85

aca ggt ttt tca aag ggc tac gcc ttc atc gaa tac aag gag gag cgt 522
Thr Gly Phe Ser Lys Gly Tyr Ala Phe Ile Glu Tyr Lys Glu Glu Arg
          90             95             100

gcc gtg atc aaa gct tac cga gat gct gat ggc ctg gtt att gac cag 570

```


Ala Val Ile Lys Ala Tyr Arg Asp Ala Asp Gly Leu Val Ile Asp Gln
 105 110 115
 cat gag ata ttt gtg gac tac gag ctg gaa agg act ctc aaa ggg tgg 618
 His Glu Ile Phe Val Asp Tyr Glu Leu Glu Arg Thr Leu Lys Gly Trp
 120 125 130 135
 atc cct cgg cga ctt gga ggc ggt ctt ggg gga aaa aag gag tct ggg 666
 Ile Pro Arg Arg Leu Gly Gly Gly Leu Gly Gly Lys Lys Glu Ser Gly
 140 145 150
 caa ctg aga ttt ggg gga cgg gac cgg cct ttt cga aaa cct att aac 714
 Gln Leu Arg Phe Gly Gly Arg Asp Arg Pro Phe Arg Lys Pro Ile Asn
 155 160 165
 ttg cca gtt gtt aaa aac gac ctc tat aga gag gga aaa cgg gaa agg 762
 Leu Pro Val Val Lys Asn Asp Leu Tyr Arg Glu Gly Lys Arg Glu Arg
 170 175 180
 cgg gag cga tct cga tcc cga gaa aga cac tgg gac tcg agg aca agg 810
 Arg Glu Arg Ser Arg Ser Arg Glu Arg His Trp Asp Ser Arg Thr Arg
 185 190 195
 gat cga gac cat gac agg ggc cgg gag aag aga tgg caa gaa aga gag 858
 Asp Arg Asp His Asp Arg Gly Arg Glu Lys Arg Trp Gln Glu Arg Glu
 200 205 210 215
 ccg acc agg gtg tgg ccc gac aat gac tgg gag aga gag agg gac ttc 906
 Pro Thr Arg Val Trp Pro Asp Asn Asp Trp Glu Arg Glu Arg Asp Phe
 220 225 230
 aga gat gac agg atc aag ggg agg gag aag aag gaa aga ggc aag tag 954
 Arg Asp Asp Arg Ile Lys Gly Arg Glu Lys Lys Glu Arg Gly Lys
 235 240 245
 aggcccaaca gcagaacccc aaagtgaagt tacagtggaa atgagtggag ggggattgtc 1014
 tttcaacgca gcgtgagtct aatggttgaa taaaacttac tgatgatcaa aaa 1067

 <210> 18
 <211> 246
 <212> PRT
 <213> HeLa-Zellen

 <400> 18
 Met Asn Asp Trp Met Pro Ile Ala Lys Glu Tyr Asp Pro Leu Lys Ala
 1 5 10 15

Gly Ser Ile Asp Gly Thr Asp Glu Asp Pro His Asp Arg Ala Val Trp
 20 25 30
 Arg Ala Met Leu Ala Arg Tyr Val Pro Asn Lys Gly Val Ile Gly Asp
 35 40 45
 Pro Leu Leu Thr Leu Phe Val Ala Arg Leu Asn Leu Gln Thr Lys Glu
 50 55 60
 Asp Lys Leu Lys Glu Val Phe Ser Arg Tyr Gly Asp Ile Arg Arg Leu
 65 70 75 80
 Arg Leu Val Arg Asp Leu Val Thr Gly Phe Ser Lys Gly Tyr Ala Phe
 85 90 95
 Ile Glu Tyr Lys Glu Glu Arg Ala Val Ile Lys Ala Tyr Arg Asp Ala
 100 105 110
 Asp Gly Leu Val Ile Asp Gln His Glu Ile Phe Val Asp Tyr Glu Leu
 115 120 125
 Glu Arg Thr Leu Lys Gly Trp Ile Pro Arg Arg Leu Gly Gly Gly Leu
 130 135 140
 Gly Gly Lys Lys Glu Ser Gly Gln Leu Arg Phe Gly Gly Arg Asp Arg
 145 150 155 160
 Pro Phe Arg Lys Pro Ile Asn Leu Pro Val Val Lys Asn Asp Leu Tyr
 165 170 175
 Arg Glu Gly Lys Arg Glu Arg Arg Glu Arg Ser Arg Ser Arg Glu Arg
 180 185 190
 His Trp Asp Ser Arg Thr Arg Asp Arg Asp His Asp Arg Gly Arg Glu
 195 200 205
 Lys Arg Trp Gln Glu Arg Glu Pro Thr Arg Val Trp Pro Asp Asn Asp
 210 215 220
 Trp Glu Arg Glu Arg Asp Phe Arg Asp Asp Arg Ile Lys Gly Arg Glu
 225 230 235 240
 Lys Lys Glu Arg Gly Lys
 245

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 00/03949

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 C12N15/12 C12N5/10 C12N1/21 C07K14/47 G01N33/50

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C12N C07K G01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, STRAND, BIOSIS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DATABASE EMBL SEQUENCES 'Online! Accession No. Q16560, 1 November 1996 (1996-11-01) ADAMS D.S. ET AL.: "U1-SNRNP binding protein homolog" XP002146486 cited in the application the whole document	1-16
P,X	WILL C.L. ET AL.: "Identification of both shared and distinct proteins in the major and minor spliceosomes." SCIENCE, vol. 284, 18 June 1999 (1999-06-18), pages 2003-2005, XP002146485 the whole document -/-	1-16

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

4 September 2000

Date of mailing of the international search report

18/09/2000

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3018

Authorized officer

Galli, I

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Internat'l Application No

PCT/EP 00/03949

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>US 5 561 222 A (KEENE JACK D ET AL) 1 October 1996 (1996-10-01) the whole document</p>	1-16

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 00/03949

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5561222 A	01-10-1996	US 5866680 A	02-02-1999

INTERNATIONALER RESEARCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 00/03949

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 7 C12N15/12 C12N5/10 C12N1/21 C07K14/47 G01N33/50

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 C12N C07K G01N

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, STRAND, BIOSIS

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	DATABASE EMBL SEQUENCES 'Online! Accession No. Q16560, 1. November 1996 (1996-11-01) ADAMS D.S. ET AL.: "U1-SNRNP binding protein homolog" XP002146486 in der Anmeldung erwähnt das ganze Dokument	1-16
P,X	WILL C.L. ET AL.: "Identification of both shared and distinct proteins in the major and minor spliceosomes." SCIENCE, Bd. 284, 18. Juni 1999 (1999-06-18), Seiten 2003-2005, XP002146485 das ganze Dokument	1-16



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"Z" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

4. September 2000

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

18/09/2000

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Galli, I

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	US 5 561 222 A (KEENE JACK D ET AL) 1. Oktober 1996 (1996-10-01) das ganze Dokument	1-16

Angaben zu Veröffentlichun, die zur selben Patentfamilie gehören

Interns: 91es Aktenzeichen

Im Recherchenbericht
angeführtes Patentdokum nt

**Datum der
Veröffentlichung**

Mitglied(er) der Patentfamilie

**Datum der
V öff ntlichung**

US 5561222

A

01-10-1996

US

5866680 A

02-02-1999

11

12

(19) World Intellectual Property Organization

International Bureau

WIPO

(43) International publication date

14 December 2000 (14.12.2000)

PCT

(10) International publication number

WO 00/75309 A1

(51) International patent classification⁷:
5/10, 1/21, C07K 14/47, G01N 33/50

C12 N 15/12.

GMBH & CO KG [DE/DE]; F-65926 Frankfurt am Main (DE).

(21) International application number: PCT/EP00/03949

(72) Inventors; and

(22) International filing date: 3 May 2000 (03.05.2000)

(75) Inventors/Applicants (US only): BAUER, Bettina [DE/DE]; Kleine Feldstrasse 9, D-65795 Hattersheim (DE). LÜHRMANN, Reinhard [DE/DE]; Ewiges Tal 16b, D-35041 Marburg (DE). WILL, Cindy [US/DE]; Georg-Voigt-Strasse 69, D-35039 Marburg (DE).

(25) Language of filing: German

(26) Language of publication: German

(30) Data relating to the priority:
199 25 668.3 4 June 1999 (04.06.1999)

DE

(81) Designated states (national): AU, CA, IL, JP, NO, NZ, PL, RO, SG, US.

(71) Applicant (for all designated States except US):
AVENTIS RESEARCH & TECHNOLOGIES

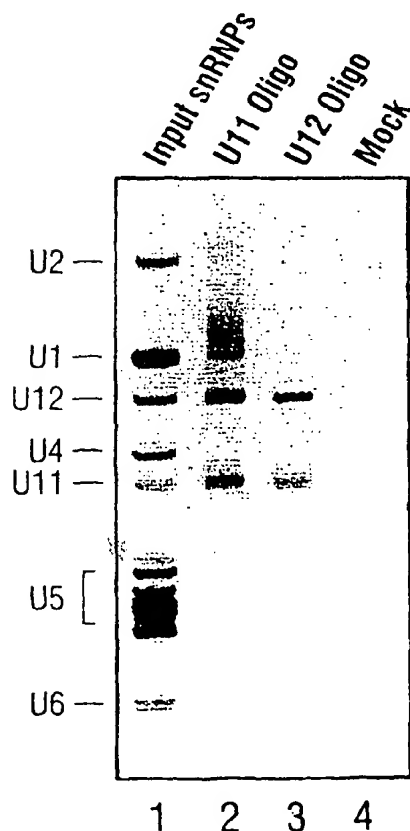
(84) Designated states (regional): European Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).

[continued on next page]

As printed

(54) Title: SPLICEOSOME PROTEIN AND ITS USE

(54) Bezeichnung: SPLEISSOSOMPROTEIN UND SEINE VERWENDUNG



(57) Abstract: The invention relates to a spliceosome protein that is associated with the U11/U12 snRNP complex of the U12-dependent spliceosome and that is specific of said spliceosome. Said protein and the DNA sequence encoding it are useful for the diagnostics of certain autoimmune diseases and of diseases that are caused by defects in the splicing apparatus.

(57) Zusammenfassung: Gegenstand der Erfindung ist ein Spleissosomprotein, das mit dem U11/U12 snRNP-Komplex des U12-abhängigen Spleissosoms assoziiert ist und für dieses Spleissosom spezifisch ist. Dieses Protein und die hierfür codierende DNA-Sequenz können bei der Diagnostik bestimmter Autoimmunkrankheiten und von Krankheiten verwendet werden, die auf Defekten im Spleissapparat beruhen.

Published:

- With the International Search Report.

For an explanation of the two-letter codes and the other abbreviations, reference is made to the explanations ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") at the beginning of each regular edition of the PCT Gazette.

INTERNATIONALER RESEARCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 00/03949

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 7 C12N15/12 C12N5/10 C12N1/21 C07K14/47 G01N33/50

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RESEARCHIERTE GEBIETE

Researchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 C12N C07K G01N

Researchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die researchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, STRAND, BIOSIS

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	DATABASE EMBL SEQUENCES 'Online! Accession No. Q16560, 1. November 1996 (1996-11-01) ADAMS D.S. ET AL.: "U1-SNRNP binding protein homolog" XP002146486 in der Anmeldung erwähnt das ganze Dokument	1-16
P,X	WILL C.L. ET AL.: "Identification of both shared and distinct proteins in the major and minor spliceosomes." SCIENCE, Bd. 284, 18. Juni 1999 (1999-06-18), Seiten 2003-2005, XP002146485 das ganze Dokument	1-16



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

A Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

E älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

L Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

O Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

P Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

T Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden

Y Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

Z Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

4. September 2000

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

18/09/2000

Name und Postanschrift der internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Beauftragter

Galli, I

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichung, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 00/03949

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
US 5561222 A	01-10-1996	US 5866680 A	02-02-1999

INTERNATIONALER RECHTSPERFICHENBERICHT

Intern Aktenzeichen

PCT/EP 00/03949

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	US 5 561 222 A (KEENE JACK D ET AL) 1. Oktober 1996 (1996-10-01) das ganze Dokument	1-16

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

PCT/EP 00/03949

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 C12N15/12 C12N5/10 C12N1/21 C07K14/47 G01N33/50

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C12N C07K G01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, STRAND, BIOSIS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DATABASE EMBL SEQUENCES 'Online! Accession No. Q16560, 1 November 1996 (1996-11-01) ADAMS D.S. ET AL.: "U1-SNRNP binding protein homolog" XP002146486 cited in the application the whole document	1-16
P, X	WILL C.L. ET AL.: "Identification of both shared and distinct proteins in the major and minor spliceosomes." SCIENCE, vol. 284, 18 June 1999 (1999-06-18), pages 2003-2005, XP002146485 the whole document	1-16

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

A document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

E earlier document but published on or after the international filing date

L document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

O document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

P document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

T later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

X document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

Y document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

Z document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

4 September 2000

Date of mailing of the international search report

18/09/2000

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Galli, I

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 00/03949

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5561222 A	01-10-1996	US 5866680 A	02-02-1999

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP 00/03949

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>US 5 561 222 A (KEENE JACK D ET AL) 1 October 1996 (1996-10-01) the whole document</p>	1-16

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AMT FÜR DAS PATENTWESEN

PCT

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

(Artikel 18 sowie Regeln 43 und 44 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts 1999/F032 PCT	<table style="width: 100%;"> <tr> <td style="width: 50%;">WEITERES VORGEHEN</td> <td style="width: 50%;">siehe Mitteilung über die Übermittlung des internationalen Recherchenberichts (Formblatt PCT/ISA/220) sowie, soweit zutreffend, nachstehender Punkt 5</td> </tr> </table>	WEITERES VORGEHEN	siehe Mitteilung über die Übermittlung des internationalen Recherchenberichts (Formblatt PCT/ISA/220) sowie, soweit zutreffend, nachstehender Punkt 5
WEITERES VORGEHEN	siehe Mitteilung über die Übermittlung des internationalen Recherchenberichts (Formblatt PCT/ISA/220) sowie, soweit zutreffend, nachstehender Punkt 5		
Internationales Aktenzeichen PCT/EP 00/ 03949	<table style="width: 100%;"> <tr> <td style="width: 50%;">Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 03/05/2000</td> <td style="width: 50%;">(Frühestes) Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 04/06/1999</td> </tr> </table>	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 03/05/2000	(Frühestes) Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 04/06/1999
Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 03/05/2000	(Frühestes) Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 04/06/1999		
Anmelder AVENTIS RESEARCH & TECHNOLOGIES GMBH & CO.KG			

Dieser internationale Recherchenbericht wurde von der Internationalen Recherchenbehörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 18 übermittelt. Eine Kopie wird dem Internationalen Büro übermittelt.

Dieser internationale Recherchenbericht umfaßt insgesamt 3 Blätter.

☒ Darüber hinaus liegt ihm jeweils eine Kopie der in diesem Bericht genannten Unterlagen zum Stand der Technik bei.

1. Grundlage des Berichts

a. Hinsichtlich der **Sprache** ist die internationale Recherche auf der Grundlage der internationalen Anmeldung in der Sprache durchgeführt worden, in der sie eingereicht wurde, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

☐ Die internationale Recherche ist auf der Grundlage einer bei der Behörde eingereichten Übersetzung der internationalen Anmeldung (Regel 23.1 b)) durchgeführt worden.

b. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale Recherche auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das

☒ in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.

☒ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.

☐ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.

☐ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.

☒ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.

☒ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfaßten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

2. ☐ Bestimmte Ansprüche haben sich als nicht recherchierbar erwiesen (siehe Feld I).

3. ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung (siehe Feld II).

4. Hinsichtlich der Bezeichnung der Erfindung

☒ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.

☐ wurde der Wortlaut von der Behörde wie folgt festgesetzt:

5. Hinsichtlich der Zusammenfassung

☒ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.

☐ wurde der Wortlaut nach Regel 38.2b) in der Form in Feld III angegeben. In dieser Fassung von der Behörde festgesetzt. Der Anmelder kann der Behörde innerhalb eines Monats nach dem Datum der Absendung dieses internationalen Recherchenberichts in Stellungnahme vorlegen.

6. Folgend Abbildung der Zeichnung ist mit der Zusammenfassung zu veröffentlichten: Abb. Nr. 1

☒ wird vom Anmelder vorgeschlagen

☐ kein der Abb.

☐ weil der Anmelder selbst keine Abbildung vorgeschlagen hat.

☐ weil diese Abbildung die Erfindung besser kennzeichnet.



A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 7 C12N15/12 C12N5/10 C12N1/21 C07K14/47 G01N33/50

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 C12N C07K G01N

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, STRAND, BIOSIS

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	DATABASE EMBL SEQUENCES 'Online! Accession No. Q16560, 1. November 1996 (1996-11-01) ADAMS D.S. ET AL.: "U1-SNRNP binding protein homolog" XP002146486 in der Anmeldung erwähnt das ganze Dokument	1-16
P, X	WILL C.L. ET AL.: "Identification of both shared and distinct proteins in the major and minor spliceosomes." SCIENCE, Bd. 284, 18. Juni 1999 (1999-06-18), Seiten 2003-2005, XP002146485 das ganze Dokument	1-16



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

4. September 2000

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

18/09/2000

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Galli, I

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	US 5 561 222 A (KEENE JACK D ET AL) 1. Oktober 1996 (1996-10-01) das ganze Dokument -----	1-16

Information on patent family members

EP 00/03949

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (July 1992)

XP-002146486

ID Q16560 PRELIMINARY; PRT; 246 AA.
AC Q16560;
DT 01-NOV-1996 (TrEMBLrel. 01, Created)
DT 01-NOV-1996 (TrEMBLrel. 01, Last sequence update)
DT 01-JUN-2000 (TrEMBLrel. 14, Last annotation update)
DE U1-SNRNP BINDING PROTEIN HOMOLOG.
OS Homo sapiens (Human).
OC Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
OC Mammalia; Eutheria; Primates; Catarrhini; Hominidae; Homo.
RN [1]
RP SEQUENCE FROM N.A.
RA Adams D.S., Li Q., Szabo T., Tan X., Pero S., Czop J.K.;
RL Submitted (FEB-1996) to the EMBL/GenBank/DBJ databases.
DR EMBL; U44799; AAA86655.1; -.
DR EMBL; U44798; AAA86654.1; -.
DR INTERPRO; IPR000504; -.
DR PFAM; PF00076; rrm; 1.
DR PROSITE; PS00030; RNP_1; UNKNOWN_1.
SQ SEQUENCE 246 AA; 29450 MW; E420E6D719D3B0C7 CRC64;
MNDWMPIAKE YDPLKAGSID GTDEDPHDRA VWRAMLARYV PNKGVIGDPL LTLFVARLNL
QTKEDKLKEV FSRYGDIRRL RLVRLVTGF SKGYAFIEYK EERAVIKAYR DADGLVIDQH
EIFVDYELER TLKGWIPRRL GGGGKKES GQLRFGGRDR PFRKPINLPV VKNDLYREGK
RERRERSRSR ERHWDSRTRD RDHDRGREKR WQEREPTRVW PDNDWERERD ERDDRIKGRE
KKERGK

PD. 1.11.1996	1
P. =	

//

09/980372
JC10 Rec'd PCT/PTO 29 NOV 2001

SPLICEOSOME PROTEIN
AND ITS USE

Bettina Bauer
Reinhard Lührmann

-and-

Cindy Will

ENGLISH TRANSLATION
OF

INTERNATIONAL APPLICATION

PCT/EP00/03949 IFD: -MAY 03, 2000-

-with-

Two (2) Sheets of Drawings

-and-

Eight (8) Pages of SEQUENCE LISTINGS

199at09.us (8602*36)

"Express Mail" mailing label
number ET 857672765

Date of Deposit

-NOVEMBER 29, 2001-

I hereby certify that this paper or fee is
being deposited with the United States Postal
Service "Express Mail Post Office to
Assess" service under 37CFR 1.10 on the
date indicated above and is addressed to Box
PCT, Commissioner for Patents,

P.O. Box 2327, Arlington, VA 22202

-Barbara J. Miller-

(Typed or printed name of person mailing
paper or fee)

(Signature of person mailing paper or fee)

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTIFICATION OF THE RECORDING
OF A CHANGE(PCT Rule 92bis.1 and
Administrative Instructions, Section 422)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

Dr. Ackermann - Patentanwalt

03. JULI 2001

ACKERMANN, Joachim
Postfach 11 13 26
60048 Frankfurt am Main
ALLEMAGNE

Ablage

10A

Date of mailing (day/month/year) 25 June 2001 (25.06.01)	IMPORTANT NOTIFICATION
Applicant's or agent's file reference 1999/EO32-PCT 1999-09-wo	
International application No. PCT/EP00/03949	International filing date (day/month/year) 03 May 2000 (03.05.00)

1. The following indications appeared on record concerning:

☐ the applicant ☐ the inventor ☒ the agent ☐ the common representative

Name and Address	State of Nationality	State of Residence
	Telephone No.	
	Facsimile No.	
	Teleprinter No.	

2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:

☒ the person ☒ the name ☒ the address ☐ the nationality ☐ the residence

Name and Address ACKERMANN, Joachim Postfach 11 13 26 60048 Frankfurt am Main Germany	State of Nationality	State of Residence
	Telephone No. 0049-69-92033-801	
	Facsimile No. 0049-69-92033-7	
	Teleprinter No.	

3. Further observations, if necessary:

Please note the above-mentioned appointment of the new agent of records.

4. A copy of this notification has been sent to:

☒ the receiving Office ☐ the designated Offices concerned
☐ the International Searching Authority ☒ the elected Offices concerned
☒ the International Preliminary Examining Authority ☐ other:

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer N. Wagner
Facsimile No.: (41-22) 740.14.35	Telephone No.: (41-22) 338.83.38

"Express Mail" mailing label
number ET 857672765

Date of Deposit
-NOVEMBER 29, 2001-

I hereby certify that this paper or fee is
being deposited with the United States Postal
Service "Express Mail Post Office to
Addressee" service under 37CFR 1.10 on the
date indicated above and is addressed to **Box**
P C T, Commissioner for Patents, P. O.
2327, Arlington, VA 22202

Box. -Barbara J. Miller-

(Typed or printed name of person mailing
paper or fee)

Barbara J. Miller
(Signature of person mailing paper or fee)

Eingang: 26. JUNI 2001

☐ WV☐ Ablage☐ Verteilen

10A

PATENT COOPERATION TREATY

PCT/EP00/03949

AEX

From the INTERNATIONAL BUREAU

NOTIFICATION OF THE RECORDING
OF A CHANGE(PCT Rule 92bis.1 and
Administrative Instructions, Section 422)

AVENTIS RESEARCH & TECHNOLOGIES
GMBH & CO KG
Patent- und Lizenzabteilung
Industriepark Höchst, Gebäude D 706
D-65926 Frankfurt am Main
ALLEMAGNE

Date of mailing (day/month/year)
13 June 2001 (13.06.01)

Applicant's or agent's file reference
1999/FO32 PCT

1999-09-20

IMPORTANT NOTIFICATION

International application No.
PCT/EP00/03949

International filing date (day/month/year)
03 May 2000 (03.05.00)

1. The following indications appeared on record concerning:



the applicant



the inventor



the agent



the common representative

Name and Address

WILL, Cindy
Georg-Voigt-Strasse 69
D-35039 Marburg
Germany

State of Nationality

US

State of Residence

DE

Telephone No.

Facsimile No.

Teleprinter No.

2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:



the person



the name



the address



the nationality



the residence

Name and Address

WILL, Cindy
Nikolausberger Weg 72
37073 Göttingen
Germany

State of Nationality

US

State of Residence

DE

Telephone No.

Facsimile No.

Teleprinter No.

3. Further observations, if necessary:

4. A copy of this notification has been sent to:



the receiving Office



the International Searching Authority



the International Preliminary Examining Authority



the designated Offices concerned



the elected Offices concerned



other:

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Facsimile No.: (41-22) 740.14.35

Authorized officer

N. Wagner

Telephone No.: (41-22) 338.83.38

"Express Mail" mailing label
number ET857672765

Date of Deposit
-NOVEMBER 29, 2001-

I hereby certify that this paper or fee is
being deposited with the United States Postal
Service "Express Mail Post Office to
Assurance" service under 37CFR 1.10 on the
date indicated above and is addressed to **BOX**

P.C.T., Commissioner for Patents,

P.O. Box 2327, Arlington, VA 22202

-Barbara J. Miller-

(Typed or printed name of person mailing
paper or fee)

(Signature of person mailing paper or fee)

60

PCT

From the INTERNATIONAL BUREAU

NOTICE INFORMING THE APPLICANT OF THE
COMMUNICATION OF THE INTERNATIONAL
APPLICATION TO THE DESIGNATED OFFICES

(PCT Rule 47.1(c), first sentence)

To:

AVENTIS RESEARCH & TECHNOLOGIES
GMBH & CO KG
Patent- und Lizenzabteilung
Industriepark Höchst, Gebäude D 706
D-65926 Frankfurt am Main
ALLEMAGNE

Date of mailing (day/month/year) 14 December 2000 (14.12.00)	MSG	
Applicant's or agent's file reference 1999/FO32 PCT	IMPORTANT NOTICE	
International application No. PCT/EP00/03949	International filing date (day/month/year) 03 May 2000 (03.05.00)	Priority date (day/month/year) 04 June 1999 (04.06.99)
Applicant AVENTIS RESEARCH & TECHNOLOGIES GMBH & CO KG et al		

1. Notice is hereby given that the International Bureau has communicated, as provided in Article 20, the international application to the following designated Offices on the date indicated above as the date of mailing of this Notice:

AU,US

In accordance with Rule 47.1(c), third sentence, those Offices will accept the present Notice as conclusive evidence that the communication of the international application has duly taken place on the date of mailing indicated above and no copy of the international application is required to be furnished by the applicant to the designated Office(s).

2. The following designated Offices have waived the requirement for such a communication at this time:

CA,EP,IL,JP,NO,NZ,PL,RO,SG

The communication will be made to those Offices only upon their request. Furthermore, those Offices do not require the applicant to furnish a copy of the international application (Rule 49.1(a-bis)).

3. Enclosed with this Notice is a copy of the international application as published by the International Bureau on 14 December 2000 (14.12.00) under No. WO 00/75309

REMINDER REGARDING CHAPTER II (Article 31(2)(a) and Rule 54.2)

If the applicant wishes to postpone entry into the national phase until 30 months (or later in some Offices) from the priority date, a **demand for international preliminary examination** must be filed with the competent International Preliminary Examining Authority before the expiration of 19 months from the priority date.

It is the applicant's sole responsibility to monitor the 19-month time limit.

Note that only an applicant who is a national or resident of a PCT Contracting State which is bound by Chapter II has the right to file a demand for international preliminary examination.

REMINDER REGARDING ENTRY INTO THE NATIONAL PHASE (Article 22 or 39(1))

If the applicant wishes to proceed with the international application in the **national phase**, he must, within 20 months or 30 months, or later in some Offices, perform the acts referred to therein before each designated or elected Office.

For further important information on the time limits and acts to be performed for entering the national phase, see the Annex to Form PCT/IB/301 (Notification of Receipt of Record Copy) and Volume II of the PCT Applicant's Guide.

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer J. Zahra
Facsimile No. (41-22) 740.14.35	Telephone No. (41-22) 338.83.38

"Express Mail" mailing label
number ET857672765

Date of Deposit
-NOVEMBER 29, 2001-

I hereby certify that this paper or fee is
being deposited with the United States Postal
Service at Express Mail Post Office to
Article 100 under 37CFR 1.10 on the
date of deposit above and is addressed to Box
P.C.T., International Bureau for Patents,
P.O. Box 2327, Arlington, VA 22202

-Barbara J. Miller-

(Typed or printed name of person mailing
paper or fee)

(Signature of person mailing paper or fee)

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

PCT

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

(Artikel 36 und Regel 70 PCT)



Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts 1999/F032 PCT	WEITERES VORGEHEN siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsberichts (Formblatt PCT/IPEA/416)	
Internationales Aktenzeichen PCT/EP00/03949	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 03/05/2000	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Tag) 04/06/1999
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK C12N15/12		
Anmelder AVENTIS RESEARCH & TECHNOLOGIES & CO KG		

1. Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.
2. Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 6 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.

☒ Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT).

 Diese Anlagen umfassen insgesamt 3 Blätter.

3. Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:
 - I ☒ Grundlage des Berichts
 - II ☐ Priorität
 - III ☐ Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
 - IV ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung
 - V ☒ Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
 - VI ☒ Bestimmte angeführte Unterlagen
 - VII ☐ Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung
 - VIII ☒ Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Datum der Einreichung des Antrags 17/10/2000	Datum der Fertigstellung dieses Berichts 11.09.2001
Name und Postanschrift der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde:  Europäisches Patentamt D-80298 München Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Bevollmächtigter Bediensteter SCHEFFZYK, I Tel. Nr. +49 89 2399 8602 

I. Grundlage des Berichts

1. Hinsichtlich der **Bestandteile** der internationalen Anmeldung (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigelegt, weil sie keine Änderungen enthalten (Regeln 70.16 und 70.17)*):
Beschreibung, Seiten:

1-15 ursprüngliche Fassung

Patentansprüche, Nr.:

1-15 mit Telefax vom 11/06/2001

Zeichnungen, Blätter:

1/2,2/2 ursprüngliche Fassung

Sequenzprotokoll in der Beschreibung, Seiten:

1-7, in der ursprünglich eingereichten Fassung.

2. Hinsichtlich der **Sprache**: Alle vorstehend genannten Bestandteile standen der Behörde in der Sprache, in der die internationale Anmeldung eingereicht worden ist, zur Verfügung oder wurden in dieser eingereicht, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

Die Bestandteile standen der Behörde in der Sprache: zur Verfügung bzw. wurden in dieser Sprache eingereicht; dabei handelt es sich um

- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen Recherche eingereicht worden ist (nach Regel 23.1(b)).
- ☐ die Veröffentlichungssprache der internationalen Anmeldung (nach Regel 48.3(b)).
- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen vorläufigen Prüfung eingereicht worden ist (nach Regel 55.2 und/oder 55.3).

3. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale vorläufige Prüfung auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das:

- ☒ in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.
- ☒ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☒ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.
- ☒ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfassten Informationen dem schriftlichen

Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

4. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

- ☐ Beschreibung, Seiten:
- ☐ Ansprüche, Nr.:
- ☐ Zeichnungen, Blatt:

5. ☐ Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)).

(Auf Ersatzblätter, die solche Änderungen enthalten, ist unter Punkt 1 hinzuweisen; sie sind diesem Bericht beizufügen).

6. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

1. Feststellung

Neuheit (N)	Ja: Ansprüche	11,13,15
	Nein: Ansprüche	1-10,12,14
Erfinderische Tätigkeit (ET)	Ja: Ansprüche	
	Nein: Ansprüche	1-15.
Gewerbliche Anwendbarkeit (GA)	Ja: Ansprüche	1-15
	Nein: Ansprüche	

2. Unterlagen und Erklärungen
siehe Beiblatt

VI. Bestimmte angeführte Unterlagen

1. Bestimmte veröffentlichte Unterlagen (Regel 70.10)

und / oder

2. Nicht-schriftliche Offenbarungen (Regel 70.9)

siehe Beiblatt

VIII. Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Zur Klarheit der Patentansprüche, der Beschreibung und der Zeichnungen oder zu der Frage, ob die Ansprüche

**INTERNATIONALER VORLÄUFIGER
PRÜFUNGSBERICHT**

Internationales Aktenzeichen PCT/EP00/03949

in vollem Umfang durch die Beschreibung gestützt werden, ist folgendes zu bemerken:
siehe Beiblatt

SEKTION V-----

Die in Database EMBL Sequences Accession No. Q16560 (1) gezeigte Sequenz ist mit der in SEQ.ID.NR. 18 gezeigten Sequenz identisch. Demnach ist der Gegenstand der Ansprüche 8, 9, 12 und 14 gegenüber (1) nicht neu. (Art. 33(2)(3) PCT). Betreffend Ansprüche 12 und 14 wird festgestellt, dass die Angabe einer beabsichtigten Verwendung nicht als limitierend betrachtet wird. Daher richtet sich der Gegenstand dieser Ansprüche auf das Produkt als solches (siehe PCT Richtlinien, C-III 4.8). Vollständigkeitshalber wird zudem bemerkt, dass eine offenbarte Aminosäuresequenz ohne Angabe ihrer Funktion zweifelsohne die Neuheit einer beanspruchten Aminosäuresequenz vorwegnimmt, denn die Funktion ist lediglich eine inherente Eigenschaft eines Proteins, welche durch die Sequenz vorgegeben wird. Das Auffinden einer (weiteren) Eigenschaft einer im Stand der Technik offenbarten Substanz ist jedoch nicht geeignet Neuheit dieser bereits bekannten Substanz wiederherzustellen.

Anspruch 9(b) umfasst jedes bisher bekannte Spleißosomprotein (siehe z.B. US-A-5 561 222 (2), in dem U1snRNP beschrieben wird).

Aufgrund des in den Ansprüchen 1, 2 und 10 verwendeten Ausdrucks "oder ein Fragment davon" kann auch Neuheit dieser Ansprüche sowie davon abhängiger Ansprüche nicht anerkannt werden (der Ausdruck "Fragment" umfasst einzelne Nukleotide). Ferner möchte die mit der vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde die Anmelderin darauf aufmerksam machen, dass das erfindungsgemäße Protein zumindest eine Region enthält, die mit dem U1-70K Protein eine hohe Identität (ca. 50%) aufweist, so dass Neuheit des Anspruchs 1(c) fraglich ist (siehe Seite 15 vorliegender Anmeldung). Darüberhinaus wird zudem angemerkt, dass die beanspruchte Sequenz eine grosse Ähnlichkeit mit einer aus *A. thaliana* isolierten Sequenz aufweist.

(1) enthält keine Hinweise betreffend der Funktion des erfindungsgemäßen Proteins (Bestandteil des U12 Komplexes). Die in (1) gemachte Bemerkung betreffend die Homologie mit dem U1 snRNP Protein erfolgte offensichtlich erst am 01.06.00 und wurde somit erst nach dem Anmeldedatum vorliegender internationaler Anmeldung gemacht. Berücksichtigt man jedoch die Tatsache, dass die Existenz des alternativen U11/U12 snRNP Komplexes zum

Anmeldezeitpunkt vorliegender Anmeldung bereits bekannt war (siehe Seite 3 der Anmeldung) scheint die Identifizierung von mit diesem Komplex assoziierenden Proteinen mittels gängiger Verfahren sowie anschliessender Charakterisierung der identifizierten Proteine mittels Homologievergleiche auf keiner erfinderischen Tätigkeit zu beruhen. Demnach erfüllen vorliegende Ansprüche nicht das Erfordernis des Art. 33(3) PCT.

SEKTION VI-----

Will C.L- et al., Science Bd. 284, 18.06.99

SEKTION VIII-----

- 1). Ansprüche 13 und 15 sind nicht von der Beschreibung gestützt, denn die Anmeldeunterlagen enthalten keinerlei **technische** Daten, welche die medizinische Verwendbarkeit des beanspruchten Spleißosomproteins, bzw. des entsprechenden DNA-Moleküls belegen würden (Art. 5 und 6 PCT).

Patentansprüche

1. DNA-Sequenz codierend für ein Spleißosomprotein mit der Funktion des mit dem U11/U12 snRNP-Komplex des AT-AC-Spleißosoms assoziierten 35kD-Proteins, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus
- a) DNA-Sequenzen, die ein Protein mit der Aminosäuresequenz nach SEQ ID No. 18 codieren;
- b) DNA-Sequenz gemäß a), umfassend die Nukleotidsequenz nach SEQ ID No. 17;
- c) DNA-Sequenzen, die mit den zu den Sequenzen unter a) komplementären Sequenzen hybridisieren und befähigt sind, ein Protein mit den funktionellen Eigenschaften des 35kD-Proteins des U11/U12 snRNP-Komplexes zu codieren; und
- d) DNA-Sequenzen, die in ihrem genetischen Code bezüglich der unter a) oder c) genannten Sequenzen degeneriert sind;
- sowie Fragmente dieser Sequenzen und die zu den unter a), b), c) und d) genannten Sequenzen oder den Fragmenten davon komplementären Sequenzen.
2. Rekombinantes DNA-Molekül, enthaltend eine DNA-Sequenz nach Anspruch 1.
3. Rekombinantes DNA-Molekül nach Anspruch 2, worin die für das Spleißosomprotein codierende DNA mit regulatorischen Sequenzen verknüpft ist, die die Expression des Proteins in prokaryontischen oder eukaryontischen Zellen ermöglichen.

4. Vektor, enthaltend eine Sequenz nach Anspruch 1 oder ein rekombinantes DNA-Molekül nach einem der Ansprüche 2 oder 3.
5. Wirtsorganismus mit Ausnahme des Menschen, enthaltend ein rekombinantes DNA-Molekül nach irgendeinem der Ansprüche 2 oder 3 oder einen Vektor nach Anspruch 4.
6. Wirtsorganismus nach Anspruch 5, welcher ein prokaryontischer Mikroorganismus ist.
10. 7. Wirtsorganismus nach Anspruch 5, welcher ein eukaryontischer Mikroorganismus ist.
15. 8. Spleißosomprotein mit der Funktion des mit dem U11/U12 snRNP-Komplexes des U12-Spleißosoms assoziierten 35kD-Proteins, welches durch eine der Sequenzen nach Anspruch 1 codiert wird.
20. 9. Spleißosomprotein nach Anspruch 8, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus
 - a) einem Polypeptid mit der Aminosäuresequenz nach SEQ ID No. 18;
 - b) einem Polypeptid, das im Vergleich mit der Sequenz nach a) eine oder mehrere Aminosäuredeletionen, Aminosäureaustausche, Aminosäureadditionen und/oder Aminosäureinsertionen aufweist.
25. 10. Verwendung einer DNA-Sequenz nach Anspruch 1 oder eines Fragments davon zur Isolierung homologer DNA- oder RNA-Sequenzen.
30. 11. Verwendung eines Spleißosomproteins nach Anspruch 8 zum Auffinden von Spleißmodulatoren.

12. Arzneimittel enthaltend eine Nukleinsäure gemäß einem der Ansprüche 1 bis 3 und/oder ein Spleißosomprotein gemäß einer der Ansprüche 8 oder 9 und gegebenenfalls pharmazeutisch annehmbare Zusatz- und/oder Hilfsstoffe.
13. Verfahren zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von Krebs, Autoimmunkrankheiten, insbesondere Grave's Krankheit, spinale Muskelatrophie, β '-Thalassaemie, Krebserkrankungen in bezug auf das c-erb-Onkogen, Hepatitis C Infektion, Herpes Simplex Virus Infektion, Systemischer Lupus erythematoses, Hermansky-Pudlak-Syndrom, dadurch gekennzeichnet, daß eine Nukleinsäure gemäß einem der Ansprüche 1 bis 3 und/oder ein Spleißosomprotein gemäß einer der Ansprüche 8 oder 9 mit einem pharmazeutisch annehmbaren Zusatz- und/oder Hilfsstoff formuliert wird.
14. Diagnostikum enthaltend Nukleinsäure gemäß einem der Ansprüche 1 bis 3 und/oder ein Spleißosomprotein gemäß einer der Ansprüche 8 oder 9 und gegebenenfalls pharmazeutisch annehmbare Zusatz- und/oder Hilfsstoffe.
15. Verfahren zur Herstellung eines Diagnostikums zur Diagnose von Grave's Krankheit, spinale Muskelatrophie, β '-Thalassaemie, Krebserkrankungen in bezug auf das c-erb-Onkogen, Hepatitis C Infektion, Herpes Simplex Virus Infektion, Systemischer Lupus erythematoses, Hermansky-Pudlak-Syndrom, dadurch gekennzeichnet, daß eine Nukleinsäure gemäß einem der Ansprüche 1 bis 3 und/oder ein Spleißosomprotein gemäß einer der Ansprüche 8 oder 9 mit einem pharmazeutisch annehmbaren Träger versetzt wird.

25

Translation

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference 1999/FO32 PCT	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/EP00/03949	International filing date (day/month/year) 03 May 2000 (03.05.00)	Priority date (day/month/year) 04 June 1999 (04.06.99)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C12N 15/12, 5/10, 1/21, C07K 14/47, G01N 33/50		
Applicant AVENTIS RESEARCH & TECHNOLOGIES GMBH & CO KG		

<p>1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.</p> <p>2. This REPORT consists of a total of <u>6</u> sheets, including this cover sheet.</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).</p> <p>These annexes consist of a total of <u>3</u> sheets.</p>	
<p>3. This report contains indications relating to the following items:</p> <p>I <input checked="" type="checkbox"/> Basis of the report</p> <p>II <input type="checkbox"/> Priority</p> <p>III <input type="checkbox"/> Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability</p> <p>IV <input type="checkbox"/> Lack of unity of invention</p> <p>V <input checked="" type="checkbox"/> Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement</p> <p>VI <input checked="" type="checkbox"/> Certain documents cited</p> <p>VII <input type="checkbox"/> Certain defects in the international application</p> <p>VIII <input checked="" type="checkbox"/> Certain observations on the international application</p>	

Date of submission of the demand 17 October 2000 (17.10.00)	Date of completion of this report 11 September 2001 (11.09.2001)
Name and mailing address of the IPEA/EP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/EP00/03949

I. Basis of the report

1. With regard to the **elements** of the international application:*

- ☒ the international application as originally filed
- ☒ the description:
pages 1-15, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____
- ☒ the claims:
pages _____, as originally filed
pages _____, as amended (together with any statement under Article 19
pages _____, filed with the demand
pages 1-15, filed with the letter of 11 June 2001 (11.06.2001)
- ☒ the drawings:
pages 1/2, 2/2, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____
- ☒ the sequence listing part of the description:
pages 1-7, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____

2. With regard to the **language**, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language _____ which is:

- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)).
- ☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
- ☐ the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☒ contained in the international application in written form.
- ☒ filed together with the international application in computer readable form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
- ☒ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
- ☒ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

4. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages _____
- ☐ the claims, Nos. _____
- ☐ the drawings, sheets/fig _____

5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).**

* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rule 70.16 and 70.17).

** Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement**1. Statement**

Novelty (N)	Claims	11, 13, 15	YES
	Claims	1-10, 12, 14	NO
Inventive step (IS)	Claims		YES
	Claims	1-15	NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-15	YES
	Claims		NO

2. Citations and explanations

The sequence shown in EMBL Sequences Accession No. Q16560 (1) is identical to the sequence shown in SEQ.ID.NO. 18. The subject matter of Claims 8, 9, 12 and 14 is therefore not novel over (1) (PCT Article 33(2) and (3)). As regards Claims 12 and 14 it is noted that a statement of intended use is not regarded as limiting. The subject matter of these claims is therefore directed to the product *per se* (cf. PCT Guidelines PCT/GL Ch. III-4.8). For the sake of completeness it is also noted that a disclosed amino acid sequence without a statement of its function undoubtedly deprives a claimed amino acid sequence of novelty, since the function is merely an inherent property of a protein, predetermined by the sequence. The discovery of a (further) property of a substance disclosed in the prior art is however not capable of restoring novelty to this known substance.

Claim 9(b) covers every known spliceosome protein (see e.g. US-A-5 561 222 (2), in which U1 snRNP is described).

Likewise the expression "or a fragment thereof" used in Claims 1, 2 and 10 deprives these claims and claims appended to them of novelty (the word "fragment" covers

individual nucleotides). Moreover, the International Preliminary Examining Authority would like to draw the applicant's attention to the fact that the protein according to the invention contains at least one region having a high degree of identity (ca. 50%) with the U1-70K protein, so that the novelty of Claim 1(c) is questionable (see page 15 of the present application). Furthermore it is noted that the claimed sequence has great similarity to a sequence isolated from *A. thaliana*.

(1) does not contain any indications as to the function of the protein according to the invention (component of the U12 complex). The note in (1) regarding the homology with the U1 snRNP protein was evidently not made until 01.06.00 and therefore not until after the filing date of the present international application. Considering however the fact that the existence of the alternative U11/U12 snRNP complex was already known at the filing date of the present application (see page 3 of the application), the identification of proteins associating with this complex by conventional methods and subsequent characterisation of the identified proteins by homology comparisons does not appear to involve an inventive step. The present claims therefore do not meet the requirements of PCT Article 33(3).

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/EP 00/03949

Supplemental Box

(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of: VI

Will C.L. et al., Science, Vol. 284, 18.06.99.

VIII. Certain observations on the international application

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

Claims 13 and 15 are not supported by the description, as the specification contains no **technical** data as evidence of the medical usability of the claimed spliceosome protein or of the corresponding DNA molecule (PCT Articles 5 and 6).

ART 34 ARMYT

Patentansprüche

1. DNA-Sequenz codierend für ein Spleißosomprotein mit der Funktion des mit dem U11/U12 snRNP-Komplex des AT-AC-Spleißosoms assoziierten 35kD-Proteins, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus
- 5 a) DNA-Sequenzen, die ein Protein mit der Aminosäuresequenz nach SEQ ID No. 18 codieren;
- 10 b) DNA-Sequenz gemäß a), umfassend die Nukleotidsequenz nach SEQ ID No. 17;
- 15 c) DNA-Sequenzen, die mit den zu den Sequenzen unter a) komplementären Sequenzen hybridisieren und befähigt sind, ein Protein mit den funktionellen Eigenschaften des 35kD-Proteins des U11/U12 snRNP-Komplexes zu codieren; und
- 20 d) DNA-Sequenzen, die in ihrem genetischen Code bezüglich der unter a) oder c) genannten Sequenzen degeneriert sind;
- 25 sowie Fragmente dieser Sequenzen und die zu den unter a), b), c) und d) genannten Sequenzen oder den Fragmenten davon komplementären Sequenzen.
- 30 2. Rekombinantes DNA-Molekül, enthaltend eine DNA-Sequenz nach Anspruch 1.
3. Rekombinantes DNA-Molekül nach Anspruch 2, worin die für das Spleißosomprotein codierende DNA mit regulatorischen Sequenzen verknüpft ist, die die Expression des Proteins in prokaryontischen oder eukaryontischen Zellen ermöglichen.
- 35

4. Vektor, enthaltend eine Sequenz nach Anspruch 1 oder ein rekombinantes DNA-Molekül nach einem der Ansprüche 2 oder 3.
5. Wirtsorganismus mit Ausnahme des Menschen, enthaltend ein rekombinantes DNA-Molekül nach irgendeinem der Ansprüche 2 oder 3 oder einen Vektor nach Anspruch 4.
6. Wirtsorganismus nach Anspruch 5, welcher ein prokaryontischer Mikroorganismus ist.
7. Wirtsorganismus nach Anspruch 5, welcher ein eukaryontischer Mikroorganismus ist.
8. Spleißosomprotein mit der Funktion des mit dem U11/U12 snRNP-Komplexes des U12-Spleißosoms assoziierten 35kD-Proteins, welches durch eine der Sequenzen nach Anspruch 1 codiert wird.
9. Spleißosomprotein nach Anspruch 8, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus
- a) einem Polypeptid mit der Aminosäuresequenz nach SEQ ID No. 18;
- b) einem Polypeptid, das im Vergleich mit der Sequenz nach a) eine oder mehrere Aminosäuredeletionen, Aminosäureaustausche, Aminosäureadditionen und/oder Aminosäureinsertionen aufweist.
10. Verwendung einer DNA-Sequenz nach Anspruch 1 oder eines Fragments davon zur Isolierung homologer DNA- oder RNA-Sequenzen.
11. Verwendung eines Spleißosomproteins nach Anspruch 8 zum Auffinden von Spleißmodulatoren.

12. Arzneimittel enthaltend eine Nukleinsäure gemäß einem der Ansprüche 1 bis 3 und/oder ein Spleißosomprotein gemäß einer der Ansprüche 8 oder 9 und gegebenenfalls pharmazeutisch annehmbare Zusatz- und/oder Hilfsstoffe.
- 5 13. Verfahren zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von Krebs, Autoimmunkrankheiten, insbesondere Grave's Krankheit, spinale Muskelatrophie, β' -Thalassaemie, Krebserkrankungen in bezug auf das c-erb-Onkogen, Hepatitis C Infektion, Herpes Simplex Virus Infektion, Systemischer Lupus erythematodes, Hermansky-Pudlak-Syndrom, dadurch gekennzeichnet, daß eine Nukleinsäure
10 gemäß einem der Ansprüche 1 bis 3 und/oder ein Spleißosomprotein gemäß einer der Ansprüche 8 oder 9 mit einem pharmazeutisch annehmbaren Zusatz- und/oder Hilfsstoff formuliert wird.
14. Diagnostikum enthaltend Nukleinsäure gemäß einem der Ansprüche 1 bis 3 und/oder ein Spleißosomprotein gemäß einer der Ansprüche 8 oder 9 und
15 gegebenenfalls pharmazeutisch annehmbare Zusatz- und/oder Hilfsstoffe.
15. Verfahren zur Herstellung eines Diagnostikums zur Diagnose von Grave's Krankheit, spinale Muskelatrophie, β' -Thalassaemie, Krebserkrankungen in
20 bezug auf das c-erb-Onkogen, Hepatitis C Infektion, Herpes Simplex Virus Infektion, Systemischer Lupus erythematodes, Hermansky-Pudlak-Syndrom, dadurch gekennzeichnet, daß eine Nukleinsäure gemäß einem der Ansprüche 1 bis 3 und/oder ein Spleißosomprotein gemäß einer der Ansprüche 8 oder 9 mit einem pharmazeutisch annehmbaren Träger versetzt wird.

25

"Express Mail" mailing label
number EI 857672765

Date of Deposit
NOVEMBER 29, 2001-

I hereby certify that this paper or fee is
being deposited with the United States Postal
Service "Express Mail Post Office to
Asynchronous Service under 37CFR 1.10 on the
date indicated above and is addressed to Box

P. C. T., Commissioner for Patents,
P.O. Box 2327, Arlington, VA 22202
-Barbara J. Miller-

(Typed or printed name of person mailing
paper or fee)

(Signature of person mailing paper of fee)

REPLACES BY
ART 34 AND 37

Patent claims

1. A DNA sequence coding for a spliceosomal protein having the function of the 35kD protein associated with the U11/U12 snRNP complex of the U12 spliceosome, which sequence is selected from the group comprising
- 5
- a) DNA sequences which encode a protein having the amino acid sequence according to SEQ ID No. 18;
- 10
- b) DNA sequences which hybridize with the sequences complementary to the sequences under a) and are capable of encoding a protein having the functional properties of the 35kD protein of the U11/12 snRNP complex; and
- 15
- c) DNA sequences whose genetic code is degenerated with respect to the sequences mentioned under a) or b);
- and fragments of said sequences and the sequences complementary to the sequences mentioned under a), b) and c) or the fragments thereof.
- 20
2. The DNA sequence as claimed in claim 1, comprising the nucleotide sequence according to SEQ ID No. 17, sequences complementary thereto and fragments of said sequences.
- 25
3. A recombinant DNA molecule comprising a DNA sequence as claimed in claim 1 or 2.
- 30
4. The recombinant DNA molecule as claimed in claim 3, wherein the DNA coding for the spliceosomal protein is linked to regulatory sequences which make expression of the protein in prokaryotic or eukaryotic cells possible.
- 35
5. A vector comprising a sequence as claimed in claim 1 or 2 or a recombinant DNA molecule as claimed in either of claims 3 and 4.

6. A host organism comprising a recombinant DNA molecule as claimed in either of claims 3 and 4 or a vector as claimed in claim 5.
- 5 7. The host organism as claimed in claim 6, which is a prokaryotic microorganism.
8. The host organism as claimed in claim 6, which is a eukaryotic microorganism.
- 10 9. A spliceosomal protein having the function of the 35kD protein associated with the U11/U12 snRNP complex of the U12 spliceosome, which spliceosomal protein is encoded by any of the sequences as claimed in claim 1 or 2.
- 15 10. The spliceosomal protein as claimed in claim 9, selected from the group comprising
- 20 a) a polypeptide having the amino acid sequence according to SEQ ID No. 18;
- b) a polypeptide which, in comparison with the sequence as claimed in a), has one or more amino acid deletions, amino acid exchanges, amino acid additions and/or amino acid insertions.
- 25 11. The use of a DNA sequence as claimed in claim 1 or 2 or of a fragment thereof for isolating homologous DNA sequences or RNA sequences.
- 30 12. The use of a spliceosomal protein as claimed in claim 9 for finding splicing modulators.
- 35 13. A pharmaceutical comprising a nucleic acid as claimed in any of claims 1 to 4 and/or a spliceosomal protein as claimed in either of claims 9 and 10 and, where appropriate, pharmaceutically acceptable additives and/or excipients.

14. A process for producing a pharmaceutical for the treatment of cancer, autoimmune diseases, in particular Grave's disease, spinal muscular atrophy, β' -thalassemia, cancers related to the c-erb oncogene, hepatitis C infection, herpes simplex virus infection, systemic lupus erythematosus, Hermansky-Pudlak syndrome, which comprises formulating a nucleic acid as claimed in any of claims 1 to 4 and/or a spliceosomal protein as claimed in either of claims 9 and 10 together with a pharmaceutically acceptable additive and/or excipient.
15. A diagnostic agent comprising nucleic acid as claimed in any of claims 1 to 4 and/or a spliceosomal protein as claimed in either of claims 9 and 10 and, where appropriate, pharmaceutically acceptable additives and/or excipients.
16. A process for producing a diagnostic agent for diagnosis of Grave's disease, spinal muscular atrophy, β' -thalassemia, cancers related to the c-erb oncogene, hepatitis C infection, herpes simplex virus infection, systemic lupus erythematosus, Hermansky-Pudlak syndrome, which comprises adding a pharmaceutically acceptable carrier to a nucleic acid as claimed in any of claims 1 to 4 and/or a spliceosomal protein as claimed in either of claims 9 and 10.

PCT
RECEIVING OFFICE REQUEST FORM
199at09.us (5) pages
ANTRAG

Der Unterzeichnete beantragt, daß die vorliegende internationale Anmeldung nach dem Vertrag über die internationale Zusammenarbeit auf dem Gebiet des Patentwesens behandelt wird.

V Anmeldeamt auszufüllen	
PCT/EP 00 / 03949	
Internationales Aktenzeichen	
(03.05.2000)	03 MAY 2000
Internationales Anmeldedatum	
EUROPEAN PATENT OFFICE PCT INTERNATIONAL APPLICATION	
Name des Anmeldeamts und "PCT International Application"	
Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts (falls gewünscht) (max. 12 Zeichen) 1999/F032 PCT	

Feld Nr. I BEZEICHNUNG DER ERFINDUNG
Spleißosomprotein und seine Verwendung

Feld Nr. II ANMELDER

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

Aventis Research & Technologies GmbH & Co KG

D-65926 Frankfurt am Main
Deutschland

☐ Diese Person ist gleichzeitig Erfinder

Telefonnr.: 069-305-3335

Telefaxnr.: 069-305-16350

Fernschreibnr.:

Staatsangehörigkeit (Staat): DE

Sitz oder Wohnsitz (Staat): DE

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten: ☐ alle Bestimmungsstaaten ☒ alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika ☐ nur die Vereinigten Staaten von Amerika ☐ die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

Feld Nr. III WEITERE ANMELDER UND/ODER (WEITERE) ERFINDER

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

BAUER, Bettina
Kleine Feldstraße 9
65795 Hattersheim
Deutschland

Diese Person ist:

☐ nur Anmelder

☒ Anmelder und Erfinder

☐ nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)

Staatsangehörigkeit (Staat): DE

Sitz oder Wohnsitz (Staat): DE

Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten: ☐ alle Bestimmungsstaaten ☐ alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika ☒ nur die Vereinigten Staaten von Amerika ☐ die im Zusatzfeld angegebenen Staaten

☒ Weitere Anmelder und/oder (weitere) Erfinder sind auf einem Fortsetzungsblatt angegeben.

Feld Nr. IV ANWALT ODER GEMEINSAMER VERTRETER; ODER ZUSTELLANSCHRIFT

Die folgende Person wird hiermit bestellt/ist bestellt worden, um für den (die) Anmelder vor den zuständigen internationalen Behörden in folgender Eigenschaft zu handeln als: ☐ Anwalt ☐ gemeinsamer Vertreter.

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben.)

Aventis Research & Technologies GmbH & Co KG
Patent- und Lizenzabteilung,
Industriepark Höchst, Gebäude D 706
D-65926 Frankfurt am Main DE

Telefonnr.: 069-305-3335

Telefaxnr.: 069-305-16350

Fernschreibnr.:

☒ **Zustellanschrift:** Dieses Kästchen ist anzukreuzen, wenn kein Anwalt oder gemeinsamer Vertreter bestellt ist und statt dessen im obigen Feld eine spezielle Zustellanschrift angegeben ist.

Fortsetzung von Feld Nr. III WEITERE ANMELDER UND/ODER (WEITERE) ERFINDER	
<i>Wird keines der folgenden Felder benutzt, so sollte dieses Blatt dem Antrag nicht beigelegt werden.</i>	
<p><small>Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)</small></p> <p>LÜHRMANN, Reinhard Ewiges Tal 16b 35041 Marburg Deutschland</p>	<p>Diese Person ist:</p> <p><input type="checkbox"/> nur Anmelder</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Anmelder und Erfinder</p> <p><input type="checkbox"/> nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)</p>
Staatsangehörigkeit (Staat): DE	Sitz oder Wohnsitz (Staat): DE
<p>Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten: <input type="checkbox"/> alle Bestimmungsstaaten <input type="checkbox"/> alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika <input checked="" type="checkbox"/> nur die Vereinigten Staaten von Amerika <input type="checkbox"/> die im Zusatzfeld angegebenen Staaten</p>	
<p><small>Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)</small></p> <p>WILL, Cindy Georg-Voigt-Straße 69 35039 Marburg Deutschland</p>	<p>Diese Person ist:</p> <p><input type="checkbox"/> nur Anmelder</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Anmelder und Erfinder</p> <p><input type="checkbox"/> nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)</p>
Staatsangehörigkeit (Staat): US	Sitz oder Wohnsitz (Staat): DE
<p>Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten: <input type="checkbox"/> alle Bestimmungsstaaten <input type="checkbox"/> alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika <input checked="" type="checkbox"/> nur die Vereinigten Staaten von Amerika <input type="checkbox"/> die im Zusatzfeld angegebenen Staaten</p>	
<p><small>Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)</small></p>	<p>Diese Person ist:</p> <p><input type="checkbox"/> nur Anmelder</p> <p><input type="checkbox"/> Anmelder und Erfinder</p> <p><input type="checkbox"/> nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)</p>
Staatsangehörigkeit (Staat):	Sitz oder Wohnsitz (Staat):
<p>Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten: <input type="checkbox"/> alle Bestimmungsstaaten <input type="checkbox"/> alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika <input type="checkbox"/> nur die Vereinigten Staaten von Amerika <input type="checkbox"/> die im Zusatzfeld angegebenen Staaten</p>	
<p><small>Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)</small></p>	<p>Diese Person ist:</p> <p><input type="checkbox"/> nur Anmelder</p> <p><input type="checkbox"/> Anmelder und Erfinder</p> <p><input type="checkbox"/> nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)</p>
Staatsangehörigkeit (Staat):	Sitz oder Wohnsitz (Staat):
<p>Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten: <input type="checkbox"/> alle Bestimmungsstaaten <input type="checkbox"/> alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika <input type="checkbox"/> nur die Vereinigten Staaten von Amerika <input type="checkbox"/> die im Zusatzfeld angegebenen Staaten</p>	
<p><input type="checkbox"/> Weitere Anmelder und/oder (weitere) Erfinder sind auf einem zusätzlichen Fortsetzungsblatt angegeben.</p>	

Feld Nr. V BESTIMMUNG VON STAATEN

Die folgenden Bestimmungen nach Regel 4.9 Absatz a werden hiermit vorgenommen (bitte die entsprechenden Kästchen ankreuzen; wenigstens ein Kästchen muß angekreuzt werden):

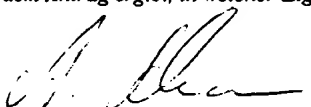
Regionales Patent

- ☐ AP ARIPO-Patent: GH Ghana, GM Gambia, KE Kenia, LS Lesotho, MW Malawi, SD Sudan, SZ Swasiland, UG Uganda, ZW Simbabwe und jeder weitere Staat, der Vertragsstaat des Harare-Protokolls und des PCT ist
- ☐ EA Eurasisches Patent: AM Armenien, AZ Aserbaidshan, BY Belarus, KG Kirgisistan, KZ Kasachstan, MD Republik Moldau, RU Russische Föderation, TJ Tadschikistan, TM Turkmenistan und jeder weitere Staat, der Vertragsstaat des Eurasischen Patentübereinkommens und des PCT ist
- ☒ EP Europäisches Patent: AT Österreich, BE Belgien, CH und LI Schweiz und Liechtenstein, CY Zypern, DE Deutschland, DK Dänemark, ES Spanien, FI Finnland, FR Frankreich, GB Vereinigtes Königreich, GR Griechenland, IE Irland, IT Italien, LU Luxemburg, MC Monaco, NL Niederlande, PT Portugal, SE Schweden und jeder weitere Staat, der Vertragsstaat des Europäischen Patentübereinkommens und des PCT ist
- ☐ OA OAPI-Patent: BF Burkina Faso, BJ Benin, CF Zentralafrikanische Republik, CG Kongo, CI Côte d'Ivoire, CM Kamerun, GA Gabun, GN Guinea, GW Guinea-Bissau, ML Mali, MR Mauretanien, NE Niger, SN Senegal, TD Tschad, TG Togo und jeder weitere Staat, der Vertragsstaat der OAPI und des PCT ist (falls eine andere Schutzrechtsart oder ein sonstiges Verfahren gewünscht wird, bitte auf der gepunkteten Linie angeben)

Nationales Patent (falls eine andere Schutzrechtsart oder ein sonstiges Verfahren gewünscht wird, bitte auf der gepunkteten Linie angeben):

- | | |
|---|--|
| <input type="checkbox"/> AL Albanien | <input type="checkbox"/> LS Lesotho |
| <input type="checkbox"/> AM Armenien | <input type="checkbox"/> LT Litauen |
| <input type="checkbox"/> AT Österreich | <input type="checkbox"/> LU Luxemburg |
| <input checked="" type="checkbox"/> AU Australien | <input type="checkbox"/> LV Lettland |
| <input type="checkbox"/> AZ Aserbaidshan | <input type="checkbox"/> MD Republik Moldau |
| <input type="checkbox"/> BA Bosnien-Herzegowina | <input type="checkbox"/> MG Madagaskar |
| <input type="checkbox"/> BB Barbados | <input type="checkbox"/> MK Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien |
| <input type="checkbox"/> BG Bulgarien | <input type="checkbox"/> MN Mongolei |
| <input type="checkbox"/> BR Brasilien | <input type="checkbox"/> MW Malawi |
| <input type="checkbox"/> BY Belarus | <input type="checkbox"/> MX Mexiko |
| <input checked="" type="checkbox"/> CA Kanada | <input checked="" type="checkbox"/> NO Norwegen |
| <input type="checkbox"/> CH und LI Schweiz und Liechtenstein | <input checked="" type="checkbox"/> NZ Neuseeland |
| <input type="checkbox"/> CN China | <input checked="" type="checkbox"/> PL Polen |
| <input type="checkbox"/> CU Kuba | <input type="checkbox"/> PT Portugal |
| <input type="checkbox"/> CZ Tschechische Republik | <input checked="" type="checkbox"/> RO Rumänien |
| <input type="checkbox"/> DE Deutschland | <input type="checkbox"/> RU Russische Föderation |
| <input type="checkbox"/> DK Dänemark | <input type="checkbox"/> SD Sudan |
| <input type="checkbox"/> EE Estland | <input type="checkbox"/> SE Schweden |
| <input type="checkbox"/> ES Spanien | <input checked="" type="checkbox"/> SG Singapur |
| <input type="checkbox"/> FI Finnland | <input type="checkbox"/> SI Slowenien |
| <input type="checkbox"/> GB Vereinigtes Königreich | <input type="checkbox"/> SK Slowakei |
| <input type="checkbox"/> GD Grenada | <input type="checkbox"/> SL Sierra Leone |
| <input type="checkbox"/> GE Georgien | <input type="checkbox"/> TJ Tadschikistan |
| <input type="checkbox"/> GH Ghana | <input type="checkbox"/> TM Turkmenistan |
| <input type="checkbox"/> GM Gambia | <input type="checkbox"/> TR Türkei |
| <input type="checkbox"/> HR Kroatien | <input type="checkbox"/> TT Trinidad und Tobago |
| <input type="checkbox"/> HU Ungarn | <input type="checkbox"/> UA Ukraine |
| <input type="checkbox"/> ID Indonesien | <input checked="" type="checkbox"/> UG Uganda |
| <input checked="" type="checkbox"/> IL Israel | <input checked="" type="checkbox"/> US Vereinigte Staaten von Amerika |
| <input type="checkbox"/> IN Indien | |
| <input type="checkbox"/> IS Island | <input type="checkbox"/> UZ Usbekistan |
| <input checked="" type="checkbox"/> JP Japan | <input type="checkbox"/> VN Vietnam |
| <input type="checkbox"/> KE Kenia | <input type="checkbox"/> YU Jugoslawien |
| <input type="checkbox"/> KG Kirgisistan | <input type="checkbox"/> ZW Simbabwe |
| <input type="checkbox"/> KP Demokratische Volksrepublik Korea | |
| <input type="checkbox"/> KR Republik Korea | Kästchen für die Bestimmung von Staaten (für die Zwecke eines nationalen Patents), die dem PCT nach der Veröffentlichung dieses Formblatts beigetreten sind: |
| <input type="checkbox"/> KZ Kasachstan | <input type="checkbox"/> AE Vereinigte arabische Emirate |
| <input type="checkbox"/> LC Saint Lucia | <input type="checkbox"/> ZA Südafrika |
| <input type="checkbox"/> LK Sri Lanka | |
| <input type="checkbox"/> LR Liberia | |

Erklärung bzgl. vorsorglicher Bestimmungen: Zusätzlich zu den oben genannten Bestimmungen nimmt der Anmelder nach Regel 4.9 Absatz b auch alle anderen nach dem PCT zulässigen Bestimmungen vor mit Ausnahme der im Zusatzfeld genannten Bestimmungen, die von dieser Erklärung ausgenommen sind. Der Anmelder erklärt, daß diese zusätzlichen Bestimmungen unter dem Vorbehalt einer Bestätigung stehen und jede zusätzliche Bestimmung, die vor Ablauf von 15 Monaten ab dem Prioritätsdatum nicht bestätigt wurde, nach Ablauf dieser Frist als vom Anmelder zurückgenommen gilt. (Die Bestätigung einer Bestimmung erfolgt durch die Einreichung einer Mitteilung, in der diese Bestimmung angegeben wird, und die Zahlung der Bestimmungs- und der Bestätigungsgebühr. Die Bestätigung muß beim Anmeldeamt innerhalb der Frist von 15 Monaten eingehen.)

Feld Nr. VI PRIORITÄTSANSPRUCH		<input type="checkbox"/> Weitere Prioritätsansprüche sind im Zusatzfeld angegeben.		
Anmeldedatum der früheren Anmeldung (Tag/Monat)	Aktenzeichen der früheren Anmeldung	Ist die frühere Anmeldung eine:		
		national Anmeldung: Staat	regionale Anmeldung:* regionales Amt	internationale Anmeldung: Anmeldeamt
Zeile (1) 04. Juni 1999 (04.06.99)	19925668.3	DE		
Zeile (2)				
Zeile (3)				
<input type="checkbox"/> Das Anmeldeamt wird ersucht, eine beglaubigte Abschrift der oben in der (den) Zeile(n) _____ bezeichneten früheren Anmeldung(en) zu erstellen und dem internationalen Büro zu übermitteln (nur falls die frühere Anmeldung(en) bei dem Amt eingereicht worden ist(sind), das für die Zwecke dieser internationalen Anmeldung Anmeldeamt ist)				
<p>* Falls es sich bei der früheren Anmeldung um eine ARIPO-Anmeldung handelt, so muß in dem Zusatzfeld mindestens ein Staat angegeben werden, der Mitgliedstaat der Pariser Verbandsübereinkunft zum Schutz des gewerblichen Eigentums ist und für den die frühere Anmeldung eingereicht wurde.</p>				
Feld Nr. VII INTERNATIONALE RECHERCHENBEHÖRDE				
Wahl der internationalen Recherchenbehörde (ISA) (falls zwei oder mehr als zwei internationale Recherchenbehörden für die Ausführung der internationalen Recherche zuständig sind, geben Sie die von Ihnen gewählte Behörde an; der Zweibuchstaben-Code kann benutzt werden)		Antrag auf Nutzung der Ergebnisse einer früheren Recherche; Bezugnahme auf diese frühere Recherche (falls eine frühere Recherche bei der internationalen Recherchenbehörde beantragt oder von ihr durchgeführt worden ist):		
ISA /		Datum (Tag/Monat/Jahr)	Aktenzeichen	Staat (oder regionales Amt)
Feld Nr. VIII KONTROLLISTE; EINREICHUNGSSPRACHE				
Diese internationale Anmeldung enthält die folgende Anzahl von Blättern:		Dieser internationalen Anmeldung liegen die nachstehend angekreuzten Unterlagen bei:		
Antrag	: 5	1. <input checked="" type="checkbox"/> Blatt für die Gebührenberechnung		
Beschreibung (ohne Sequenzprotokollteil)	: 15	2. <input type="checkbox"/> Gesonderte unterzeichnete Vollmacht		
Ansprüche	: 3	3. <input checked="" type="checkbox"/> Kopie der allgemeinen Vollmacht; Aktenzeichen (falls vorhanden):		
Zusammenfassung	: 1	4. <input type="checkbox"/> Begründung für das Fehlen einer Unterschrift		
Zeichnungen	: 2	5. <input checked="" type="checkbox"/> Prioritätsbeleg(e), in Feld Nr. VI durch folgende Zeilennummer gekennzeichnet:		
Sequenzprotokollteil der Beschreibung	: 7	6. <input type="checkbox"/> Übersetzung der internationalen Anmeldung in die folgende Sprache:		
Blattzahl insgesamt	: 33	7. <input type="checkbox"/> Gesonderte Angaben zu hinterlegten Mikroorganismen oder anderem biologischen Material		
Abbildung der Zeichnungen, die mit der Zusammenfassung veröffentlicht werden soll (Nr.): 1		8. <input checked="" type="checkbox"/> Sequenzprotokolle für Nucleotide und/oder Aminosäuren in computerlesbarer Form		
		9. <input checked="" type="checkbox"/> Sonstige (einzeln auführen): Erklärung zu 8.		
		Sprache, in der die internationale Anmeldung eingereicht wird: deutsch		
Feld Nr. IX UNTERSCHRIFT DES ANMELDERS ODER DES ANWALTS				
Der Name jeder unterzeichnenden Person ist neben der Unterschrift zu wiederholen, und es ist anzugeben, sofern sich dies nicht eindeutig aus dem Antrag ergibt, in welcher Eigenschaft die Person unterzeichnet.				
				
Schnarr, Andreas (AV-Nr. 37986)				

Vom Anmeldeamt auszufüllen			
1. Datum des tatsächlichen Eingangs dieser internationalen Anmeldung:	(03.05.00)	03 MAY 2000	2. Zeichnungen <input checked="" type="checkbox"/> eingegangen: <input type="checkbox"/> nicht eingegangen:
3. Geändertes Eingangsdatum aufgrund nachträglich, jedoch fristgerecht eingegangener Unterlagen oder Zeichnungen zur Vervollständigung dieser internationalen Anmeldung:			
4. Datum des fristgerechten Eingangs der angeforderten Richtigstellungen nach Artikel 11(2) PCT:			
5. Internationale Recherchenbehörde (falls zwei oder mehr zuständig sind): ISA /		6. <input type="checkbox"/> Übermittlung des Recherchenexemplars bis zur Zahlung der Recherchegebühr aufgeschoben	

Vom Internationalen Büro auszufüllen	
Datum des Eingangs des Aktenexemplars beim Internationalen Büro:	

Zusatzfeld Wird dieses Zusatzfeld nicht benutzt, so ist dieses Blatt dem Antrag nicht beizufügen.

Dieses Feld ist in folgenden Fällen auszufüllen:

1. Wenn der Platz in einem Feld nicht für alle Angaben ausreicht:

insbesondere:

i) Wenn mehr als zwei Anmelder und/oder Erfinder vorhanden sind und kein Fortsetzungsblatt zur Verfügung steht:

In diesem Fall sind mit dem Vermerk "Fortsetzung von Feld Nr. ..." [Nummer des Feldes angeben] die gleichen Angaben zu machen wie in dem Feld vorgesehen, das platzmäßig nicht ausreicht;

ii) Wenn in Feld Nr. II oder III die Angabe "die im Zusatzfeld angegebenen Staaten" angekreuzt ist:

In diesem Fall sind mit dem Vermerk "Fortsetzung von Feld Nr. III" für jede weitere Person die in Feld Nr. III vorgesehenen Angaben zu machen. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.

iii) Wenn der in Feld Nr. II oder III genannte Erfinder oder Erfinder/Anmelder nicht für alle Bestimmungsstaaten oder für die Vereinigten Staaten von Amerika als Erfinder benannt ist:

In diesem Fall sind mit dem Vermerk "Fortsetzung von Feld Nr. II", "Fortsetzung von Feld Nr. III" oder "Fortsetzung von Feld Nr. II und Nr. III" die Namen der Anmelder und neben jedem Namen der Staat oder die Staaten (und/oder ggf. ARIPO-, eurasisches, europäisches oder OAPI-Patent) anzugeben, für die die bezeichnete Person Anmelder ist.

iv) Wenn zusätzlich zu dem Anwalt/den Anwälten, die in Feld Nr. IV angegeben sind, weitere Anwälte bestellt sind:

In diesem Fall sind mit dem Vermerk "Fortsetzung von Feld Nr. II" oder "Fortsetzung von Feld Nr. III" oder "Fortsetzung von Feld Nr. II und Nr. III" der Name des Erfinders und neben jedem Namen der Staat oder die Staaten (und/oder ggf. ARIPO-, eurasisches, europäisches oder OAPI-Patent) anzugeben, für die die bezeichnete Person Erfinder ist.

v) Wenn in Feld Nr. V bei einem Staat (oder bei OAPI) die Angabe "Zusatzpatent" oder "Zusatzzertifikat" oder wenn in Feld Nr. V bei den Vereinigten Staaten von Amerika die Angabe "Fortsetzung" oder "Teilfortsetzung" hinzugefügt wird:

In diesem Fall sind mit dem Vermerk "Fortsetzung von Feld Nr. IV" für jeden weiteren Anwalt die gleichen Angaben zu machen wie in Feld Nr. IV vorgesehen.

vi) Wenn die Priorität von mehr als drei früheren Anmeldungen beansprucht wird:

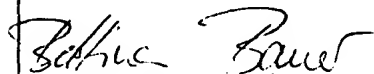
In diesem Fall sind mit dem Vermerk "Fortsetzung von Feld Nr. V" die Namen der betreffenden Staaten (oder OAPI) und nach dem Namen jeder dieser Staaten (oder OAPI) das Aktenzeichen des Hauptschutzrechts oder der Hauptschutzrechtsanmeldung und das Datum der Erteilung des Hauptschutzrechts oder der Einreichung der Hauptschutzrechtsanmeldung anzugeben.

2. Wenn der Anmelder für irgendein Bestimmungsamt die Vergünstigung nationaler Vorschriften betreffend unschädliche Offenbarung oder Ausnahmen von der Neuheitsschädlichkeit in Anspruch nimmt:

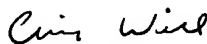
In diesem Fall sind mit dem Vermerk "Fortsetzung von Feld Nr. VI" für jede weitere frühere Anmeldung die gleichen Angaben zu machen wie in Feld Nr. VI vorgesehen.

In diesem Fall ist mit dem Vermerk "Erklärung betreffend unschädliche Offenbarung oder Ausnahmen von der Neuheitsschädlichkeit" nachstehend diese Erklärung abzugeben.

Zu Feld Nr. IX UNTERSCHRIFT DES ANMELDERS ODER DES ANWALTS


Bettina Bauer


Reinhard Lührmann


Cindy Will

"Express Mail" mailing label
number ET857672765

Date of Deposit

-NOVEMBER 29, 2001-

I hereby certify that this paper or fee is
being deposited with the United States Postal
Service at the Mail Post Office to
Assess and collect under 37 CFR 1.10 on the
date of deposit and is addressed to Box

P.C.T. Section for Patents,
P.O. Box 2327, Arlington, VA 22202
-Barbara J. Miller-

(Typed or printed name of person mailing
paper or fee)

(Signature of person mailing paper or fee)